

**Aus dem Pathologischen Institut
Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Professor Dr. med. Thomas Kirchner**

**Expressionsanalyse nukleärer Hormonrezeptoren beim
Prostatakarzinom**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

vorgelegt von

Bertram Meier

aus Leipzig

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

| | |
|-----------------------------|--------------------------------------|
| Berichterstatterin: | Prof. Dr. Doris Mayr |
| Mitberichterstatterin: | Prof. Dr. Annette Lebeau |
| Dekan: | Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel |
| Tag der mündlichen Prüfung: | 28.03.2019 |

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|----|
| 1 Einleitung | 6 |
| 1.1 Prostatakarzinom | 6 |
| 1.1.1 Epidemiologie | 6 |
| 1.1.2 Risikofaktoren | 7 |
| 1.1.3 Diagnostik und Screening | 9 |
| 1.1.4 Therapie | 10 |
| 1.1.4.1 Therapie bei lokal begrenztem Prostatakarzinom | 10 |
| 1.1.4.2 Therapie bei lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom | 12 |
| 1.1.4.3 Therapie bei lymphknotenpositivem Prostatakarzinom | 13 |
| 1.1.4.4 Therapie bei androgenunabhängigem bzw. kastrationsresistentem Prostatakarzinom | 13 |
| 1.1.4.5 Therapie bei rezidiertem bzw. metastasiertem Prostatakarzinom | 14 |
| 1.1.5 Hormonelle Beeinflussung | 15 |
| 1.1.6 Histologische Klassifikation | 16 |
| 1.2 Nukleäre Hormonrezeptoren | 18 |
| 1.2.1 Östrogenrezeptoren (Estrogen, ER) | 20 |
| 1.2.2 Retinoid-X-Rezeptor alpha (RXR α) | 23 |
| 1.2.3 Thyroidhormonrezeptoren (THR) | 25 |
| 1.2.4 Vitamin-D-Rezeptor (VDR) | 28 |
| 1.2.5 Progesteronrezeptor (PR) | 30 |
| 2 Fragestellung | 33 |
| 3 Material und Methoden | 34 |
| 3.1 Material und Patientenkollektiv | 34 |
| 3.1.1 Zusammenstellung des Patientenkollektivs | 34 |
| 3.1.1.1 Alter bei Diagnose | 35 |
| 3.1.1.2 Graduierung | 36 |
| 3.1.1.3 Gleason-Score | 36 |
| 3.1.1.4 Lymphknoten | 37 |
| 3.1.2 Untersuchungsmaterial | 37 |
| 3.1.2.1 Geräte und Verbrauchsmaterial | 37 |
| 3.1.2.2 Chemikalien | 38 |
| 3.1.2.3 Antikörper | 38 |
| 3.2 Gewebefixierung, Zuschnitt und Einbettung | 39 |
| 3.3 Immunhistochemie | 39 |
| 3.3.1 Einheitliche Vorbehandlung der Präparate | 40 |
| 3.3.2 Nachweis von ER β | 41 |
| 3.3.3 Nachweis von RXR α | 42 |
| 3.3.4 Nachweis von THR α 1/2 | 42 |
| 3.3.5 Nachweis von THR β | 43 |
| 3.3.6 Nachweis von VDR | 43 |
| 3.3.7 Einheitliche Färbung nach antikörperspezifischer Färbung | 44 |
| 3.3.8 Nachweis von ER α und PR | 45 |
| 3.4 Auswertung | 45 |
| 4 Ergebnisse | 47 |
| 4.1 ER β | 47 |
| 4.2 RXR α | 52 |
| 4.3 THR α 1/2 | 57 |
| 4.4 THR β | 62 |

| | |
|------------------------------|-----|
| 4.5 VDR | 67 |
| 4.6 ERa | 72 |
| 4.7 PR | 77 |
| 5 Diskussion | 82 |
| 6 Zusammenfassung | 96 |
| 7 Literaturverzeichnis | 98 |
| 8 Danksagung | 112 |
| Eidesstattliche Versicherung | 113 |

Meiner Familie

1 Einleitung

1.1 Prostatakarzinom

1.1.1 Epidemiologie

Das Prostatakarzinom ist weltweit die zweithäufigste Krebserkrankung und steht an dritter Stelle der Todesursachen beim Mann [1], [2]. In der Bundesrepublik Deutschland handelt es sich um die häufigste Krebserkrankung des Mannes. Der Anteil liegt bei 25,3 % aller bekannten Tumorleiden beim Mann [3]. Im Jahr 1998 gab es rund 39.000 Neuerkrankungen in Deutschland. 2012 waren es bereits 63.710 Patienten, die an einem Prostatakarzinom erkrankt waren. Dies zeigt eine deutliche Zunahme der Diagnose des Prostatakarzinoms was zum einen auf eine immer höhere Lebenserwartung in der westlichen Welt, aber auch auf eine bessere Diagnostik des Prostatakarzinoms zurückzuführen ist [3], [4].

Die Inzidenz in Deutschland liegt bei 162,1 Erkrankte/100.000 Männer bei einer Mortalität von 20,2/100.000. Im EU-Raum liegt die Inzidenz bei 105,6/100.000 und die Mortalität bei 20,6/100.000. So liegt in Deutschland die Inzidenz deutlich über dem Durchschnitt und die Mortalität ca. im Schnitt des EU-Raums [4], [5].

Weltweit ist die Inzidenz des Prostatakarzinoms sehr unterschiedlich. In Europa ist vor allem ein Nord-Süd-Gefälle zu beobachten. Beispielsweise liegt die Inzidenz in Schweden bei 90,9 Erkrankte/100.000 Männer und in Spanien bei 35,9 Erkrankte/100.000 Männer. Bei den afroamerikanischen Männern findet sich weltweit die höchste Inzidenz (185,4/100.000). Die niedrigste Inzidenz lässt sich im asiatischen Raum beobachten, hier liegt sie bei 0,5/100.000. [4], [6], [7].

Die Gründe für die ethnischen und länderspezifischen Differenzen hinsichtlich der Inzidenz sind bisher nicht abschließend geklärt. Es existieren mehrere Erklärungsansätze die auch ineinander greifen. So umfasst die Inzidenz sowohl die symptomatischen als auch die

asymptomatischen Prostatakarzinome, die im Rahmen einer Früherkennung mittels PSA-Tests entdeckt werden. Die in vielen industrialisierten Staaten verbreitete PSA-Testung könnte somit die unterschiedliche Inzidenz erklären [8]. Auch Hankey et al. gehen davon aus, dass durch die verstärkte Früherkennung, PSA-Screening und Screening im Rahmen von Studien mehr Prostatakarzinome detektiert werden und diese Faktoren Einfluss auf die Inzidenz haben [9]. Auch die Dokumentation der Karzinome ist entscheidend. Es wird vermutet, dass die geringere Inzidenz auf dem afrikanischen Kontinent im Vergleich zur afroamerikanischen Bevölkerung in den USA auf einer geringeren Meldezahl beruht. Neuere Daten aus Nigeria scheinen zu belegen, dass das Prostatakarzinom das häufigste Malignom darstellt [10].

In Deutschland liegt das Prostatakarzinom mit 10,5 % an dritter Stelle der tödlich verlaufenden Tumorerkrankungen. Das mittlere Erkrankungsalter (Median) liegt bei 70 Jahren. Im Jahr 2008 starben 12.134 Männer in Deutschland an den Folgen eines Prostatakarzinoms. Es ist davon auszugehen, dass der Anteil über 60-jähriger Männer bis zum Jahr 2050 auf ca. 28 Millionen angestiegen sein wird. Im gleichen Maß wird voraussichtlich die Zahl der Prostatakarzinome ansteigen. Unter Berücksichtigung dieser Zahlen sind weitere Fortschritte in Diagnostik und Therapie des Prostatakarzinoms erforderlich [4], [6].

1.1.2 Risikofaktoren

Es konnten verschiedene Risikofaktoren für die Entstehung eines Prostatakarzinoms identifiziert werden. Als Hauptrisikofaktor gilt das Alter des Patienten. Darüber hinaus spielen die männlichen Geschlechtshormone, allen voran Testosterone, eine entscheidende Rolle. Bereits im Jahr 1941 konnten Huggins und Hodges den Einfluss von Testosteron auf die Entwicklung eines Prostatakarzinoms nachweisen. Durch Kastration kam es zu einem verminderten Wachstum und unter

Applikation des Hormons zu einer verstärkten Proliferation des Tumors beim Mann [11].

Bei positiver Familienanamnese ist das Risiko für die Entstehung eines Prostatakarzinoms signifikant erhöht. Bisherige Untersuchungen deuten darauf hin, dass auch die ethnische Herkunft Einfluss auf die Tumorentstehung hat. Die höchste Inzidenz findet sich bei afro-amerikanischen Männern. Diese haben im Gegensatz zur weißen amerikanischen Bevölkerung ein erhöhtes Risiko für die Entstehung eines Prostatakarzinoms. Asiaten haben hingegen sehr niedrige Inzidenzraten. Allerdings zeigen Asiaten, die in die USA auswanderten und 25 Jahre dort lebten nahezu die gleiche Inzidenz für ein Prostatakarzinom wie die übrige amerikanische Bevölkerung [4], [6], [12].

Bei jüngeren Patienten wird eine genetische Komponente diskutiert. Beim HPC (hereditary prostate cancer) 1-Gen handelt es sich um ein Gen auf Chromosom 1q24-25. Es codiert unter anderem die RNASEL (eine Endoribonuclease, 2',5'-oligoadenylate (2-5A) dependent ribonuclease L), die für antivirale und proapoptotische Aktivitäten im angeborenen Immunsystem mit verantwortlich ist [13], [14], [15]. Es gelang bisher 2 Mutationen dieses Gens zu identifizieren durch die es zu einer Inaktivierung von RNASEL kommt. Die mit HPC 1 verbundenen und familiär gehäuft auftretenden Prostatakarzinome lassen sich möglicherweise auf eine Inaktivierung dieses Gens zurückführen [16].

Eine weitere wichtige chromosomale Veränderung ist der Verlust der Heterozygotie des Chromosoms 8p. Dieser Verlust konnte bei 80 % der metastasierten Prostatakarzinome nachgewiesen werden [17].

Gegenstand derzeitiger Forschung sind Lebensstil, Umwelteinflüsse sowie Ernährung. Hier konnten bisher keine ausreichend gesicherten Erkenntnisse gewonnen werden [4].

In diversen Studien zeigten sich bisher keine signifikanten Ergebnisse, die einen Zusammenhang zwischen Alkoholkonsum und dem Risiko an einem Prostatakarzinom zu erkranken, belegen [18], [19], [20], [21].

Im Gegensatz dazu besteht eine positive Korrelation zwischen dem Risiko für die Entwicklung eines Prostatakarzinoms und dem Konsum von Zigaretten [22], [23], [24], [25].

1.1.3 Diagnostik und Screening

Zur Früherkennung des Prostatakarzinoms wird Männern in Deutschland ab dem 45. Lebensjahr eine jährliche Untersuchung empfohlen. Diese beinhaltet eine Befragung nach etwaigen Beschwerden, eine Untersuchung der äußeren Genitalorgane und eine digital-rektale Tastuntersuchung (DRU) der Prostata. Darüber hinaus kann auf Wunsch des Patienten der PSA-Wert (prostataspezifisches Antigen) bestimmt werden. Aufgrund der aktuellen S3-Leitlinie zum Prostatakarzinom und entsprechender Studienlage (siehe unten) gibt es hierfür noch keine klare Empfehlung, sodass gesetzlich versicherte Patienten die Kosten für diese Untersuchung selbst tragen müssen [4], [6].

Bei auffälligen Ergebnissen (beispielsweise eine knotig veränderte Prostata bei der DRU oder ein erhöhter PSA-Wert) folgen weitere diagnostische Untersuchungen. Dabei handelt es sich unter anderem um eine sonografiegesteuerte Stanzbiopsie. Der Prostata werden dabei in der Regel 12 Biopsien entnommen, histologisch aufgearbeitet und, bei Karzinomnachweis, nach dem sogenannten Gleason-Score (siehe 1.1.6) bewertet [26].

Weitere mögliche ergänzende bildgebende Diagnosemethoden sind die Magnetresonanztomographie (MRT), die transrektale Ultraschalluntersuchung (TRUS), die Skelettszintigrafie und das heute nur noch in Ausnahmefällen genutzte Röntgen [6].

Das Prostata-spezifische Antigen spielt bei der Diagnostik eine entscheidende Rolle. Es ist eine Serinprotease deren Aufgabe in der Verflüssigung der Samenflüssigkeit liegt [27]. Nachteil der Protease ist, dass sie nicht nur von malignem Prostatagewebe sezerniert wird, sondern auch bei der benignen Prostatahyperplasie oder bei Normalbefunden

erhöht sein kann. Der Vorteil beim PSA besteht jedoch in der hohen Spezifität, da es nur von der Prostata gebildet wird [28]. Seit Einführung des PSA als Screeningparameter stieg die Inzidenz des Prostatakarzinoms stark an. Jedoch blieb die Mortalität unverändert [29]. Hieraus entsteht das Problem, dass es zur Therapie von Erkrankungen kommt die nie Einfluss auf die Lebenserwartung hätten [28]. Auf der anderen Seite gelang es die Rate an Prostatakarzinomen mit metastasierendem und tödlichem Krankheitsverlauf um 27 % zu senken [30].

Die derzeit relevanten Prognosefaktoren, die zur Beurteilung des Prostatakarzinoms herangezogen werden sind der Gleason-Score, die TNM-Kategorie, der PSA-Wert sowie die chirurgischen Resektionsränder des Karzinoms [6].

Beim TNM handelt es sich um eine Klassifikation um Tumoren in Stadien einzuteilen. Die Einteilung erfolgt nach 3 maßgebenden Gesichtspunkten: der Größe und Ausbreitung des Primärtumors (T - Tumor), das Vorhandensein von regionären Lymphknotenmetastasen (N - Node) und das Vorliegen von Fernmetastasen (M - Metastasis) [31].

1.1.4 Therapie

1.1.4.1 Therapie bei lokal begrenztem Prostatakarzinom

Bei einem lokal begrenzten Tumor der Prostata (T1-2, N0, M0) gibt es verschiedene Therapieansätze.

Beim lokal begrenzten Prostatakarzinom ist die radikale Prostatektomie bei Patienten mit einer Lebenserwartung von über 10 Jahren die Standardtherapie. Folgende operative Zugänge sind möglich: retropubisch, perineal, laparoskopisch (intra- oder extraperitoneal) oder roboterassistiert laparoskopisch. Typische Komplikationen der radikalen Prostatektomie sind die bleibende Harninkontinenz, Harnröhrenenge sowie Impotenz. Auf eine zusätzliche Lymphadenektomie kann bei niedrigem Risiko (cT1c und PSA < 10 ng/ml und Gleason-Score ≤ 6) verzichtet werden bzw. muss individuell abgewogen werden [6], [32], [5].

Eine Alternative stellt die perkutane Strahlentherapie dar. Mit Hilfe einer dreidimensionalen Bestrahlungsplanung lassen sich lokal begrenzte Prostatakarzinome aller Risikogruppen therapieren. Vor allem bei Patienten mit hohem Risikoprofil (PSA-Wert > 20 ng/ml oder Gleason-Score > 8 oder \leq cT2c) empfiehlt es sich, zusätzlich eine neo- und/oder adjuvante hormonablativ Therapie durchzuführen. Ziel hierbei ist es den Androgenspiegel zu senken bzw. die Androgenwirkung zu blockieren. Es kann eine medikamentöse oder eine chirurgische Kastration durchgeführt werden. Eine Alternative stellt die ebenfalls medikamentöse Blockade der Androgenrezeptoren dar [5], [6], [32], [33].

Weitere Strahlentherapieoptionen sind die Low-Dose-Rate-Brachytherapie (LDR-Brachytherapie) sowie die High-Dose-Rate-Brachytherapie (HDR-Brachytherapie). Erstgenannte kann bei Patienten mit einem niedrigen Risikoprofil (PSA < 10 ng/ml, Gleason-Score 6 und cT $< 2a$) als Alternative zur radikalen Prostatektomie angewandt werden. Bei HDR-Brachytherapie handelt es sich in Kombination mit der perkutanen Strahlentherapie um eine Therapiemöglichkeit für das lokal begrenzte Prostatakarzinom mit mittlerem und hohem Risikoprofil.

Bei beiden Varianten werden transperineal Implantate mit Jod-125 bzw. Palladium-103 (sogenannte Seeds) in die Prostata eingesetzt.

Eine weitere Therapieoption ist die sogenannte Active Surveillance (aktive Überwachung). In regelmäßigen Abständen finden Untersuchungen (PSA-Bestimmung, DRU, MRT) des Patienten statt. Bei gleichbleibenden Befunden bleibt eine Behandlung aus. Kommt es hingegen zur Progression des Tumors wird mit einer aktiven Therapie begonnen. Bei dieser Strategie werden nur Patienten behandelt, bei denen sich Symptome entwickeln bzw. sich eine diagnostische Verschlechterung durch das Karzinom erkennen lässt. Patienten mit einem inapparenten Tumor werden engmaschig überwacht. Diese Strategie findet bei folgenden Kriterien Anwendung: ein PSA von ≤ 10 ng/ml, klinisches Stadium T1 oder T2a, Tumormasse in maximal 2 Biopsiestanzen (bei 10-12 Stanzen), Gleason-Score ≤ 6 und ≤ 50 % Tumormasse in einer Stanze. Beträgt die

PSA-Verdopplungszeit weniger als 3 Jahre, steigt der Gleason-Score über 6, kann in mehr als 2 Biopsiestanzen Tumorgewebe nachgewiesen werden oder ist es der Wunsch des Patienten, so sollte eine andere Therapieoption als die oben genannten in Betracht gezogen werden [32], [6], [5].

Ein weiterer Ansatz ist die Watchful Waiting Therapie. Dieser Therapiezweig ist für Patienten mit einer Lebenserwartung von unter 10 Jahren sinnvoll. Dieser Parameter bestimmt sich nicht über ein bestimmtes Lebensalter, sondern ist abhängig vom biologischen Alter des Patienten. So hängt das biologische Alter von weiteren Komorbiditäten, die eine höhere Mortalität als das Prostatakarzinom aufweisen ab. Je höher das biologische Alter des Patienten, desto stärker die Nebenwirkungen und Belastung durch die möglichen Therapien (Prostatektomie, Bestrahlung, etc.) und entsprechend gravierender die Einschränkung der Lebensqualität. Das Konzept ist nicht kurativ sondern stets palliativ. Es findet erst eine palliative Behandlung des Patienten statt, wenn es zur symptomatischen Progression des Karzinoms kommt. Häufig handelt es sich hierbei um eine Hormontherapie. Typische Komplikationen der Hormontherapie sind Libidoverlust, Hitzewallungen, Osteoporose, Anämie, Gewichtszunahme, kardiovaskuläre Erkrankungen, Gynäkomastie oder Brustschmerzen [5], [32], [6].

1.1.4.2 Therapie bei lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom

Unter den Begriff des lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinoms fallen alle Karzinome mit den Stadien T3-4, N0 und M0.

Auch hier gilt die radikale Prostatektomie als primäre Therapieoption. Dabei besteht jedoch die Gefahr positiver Resektionsränder sowie erhöhte Rezidivraten. Es folgen häufig weitere Therapien wie z. B. Strahlentherapie oder eine hormonablativ Therapie. Der kurative Nutzen einer gleichzeitigen Lymphadenektomie konnte bisher nicht erbracht werden. Somit kann keine eindeutige Indikation zur Lymphadenektomie gestellt werden. Nach aktueller S3-Leitlinie wird empfohlen bei einer

klinischen Kategorie T3 eine extendierte pelvine Lymphadenektomie vorzunehmen, da ab diesem Stadium das Risiko für einen Befall der Lymphknoten erhöht ist [6].

Die perkutane Strahlentherapie stellt, wie auch beim lokal begrenzten Karzinom, eine primäre Behandlungsmöglichkeit des lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinoms dar. Die Kombination einer perkutanen Strahlentherapie mit einer langfristigen hormonablativen Therapie (mindestens 2, idealerweise 3 Jahre) ist sowohl der alleinigen perkutanen Strahlentherapie als auch der alleinigen hormonablativen Therapie überlegen.

Darüber hinaus kann auch beim lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom eine HDR-Brachytherapie angewandt werden, jedoch nur bei Tumoren im Stadium cT3 und in Kombination mit einer perkutanen Bestrahlung [5], [6].

1.1.4.3 Therapie bei lymphknotenpositivem Prostatakarzinom

Es stehen hauptsächlich 2 lokale Behandlungsmöglichkeiten zur Wahl, zum einen die operative radikale Prostatektomie und zum anderen die perkutane Strahlentherapie. Im Anschluss wird in beiden Fällen eine hormonablative Therapie empfohlen. Nach operativer Versorgung kann adjuvant eine Bestrahlung angeboten werden.

Auch hier ist der kurative Nutzen einer Lymphadenektomie bzw. einer Bestrahlung der pelvinen Lymphabflusswege nicht abschließend geklärt [6].

1.1.4.4 Therapie bei androgenunabhängigem bzw. kastrationsresistentem Prostatakarzinom

Patienten mit androgenunabhängigem bzw. kastrationsresistentem Prostatakarzinom sollten je nach Symptomatik behandelt werden.

Bei Karzinomen, die sich asymptomatisch bzw. nur gering symptomatisch präsentieren, kann entweder, unter Beibehaltung der Androgendeprivation, ein abwartendes Verhalten angestrebt oder eine

Therapieumstellung vorgenommen werden (z. B. mit Abirateron, Docetaxel oder Enzalutamid).

Symptomatischen Patienten mit progredientem Krankheitsverlauf wird hingegen eine Umstellung der Therapie empfohlen (z. B. mit Abirateron, Enzalutamid, Docetaxel) [5], [6], [32].

Abirateron ist ein Arzneimittel aus der Gruppe der Steroide. Als selektiver CYP17A1-Inhibitor führt es dazu, dass die Testosteronsynthese nicht mehr katalysiert wird und somit die Konzentration von Testosteron abnimmt [5]. Bei Docetaxel handelt es sich um ein Zytostatikum. Die Wirkungsweise besteht darin, dass es sich an den Mikrotubuli-Apparat der Zelle bindet, wodurch der Spindelapparat seine Funktion verliert und es zur völligen Blockade der Mitose und schließlich zur Apoptose der Zelle kommt [5]. Enzalutamid ist ein Medikament, dass auf verschiedenen Wegen zur Inhibierung des Androgenrezeptor-Signalwegs führt. Zusätzlich verhindert Enzalutamid die Translokation des Androgenrezeptors in den Zellkern und die Bindung an die DNA [5]. Eine weitere Substanzgruppe dient der Knochenprotektion. Bisphosphonate sind Osteoklastenhemmstoffe. Im Rahmen der überwiegend osteoblastischen Metastasen beim Prostatakarzinom wurde ihr Einsatz lange Zeit für nicht nötig erachtet. Untersuchungen haben jedoch gezeigt, dass es zu einer Aktivierung von Osteoklasten kommt. Beim Bisphosphonat Zoledronsäure kommt zur Senkung pathologischer Frakturen. Damit haben Bisphosphonate Einzug in die S3-Leitlinie für das kastrationsresistente Prostatakarzinom mit Knochenmetastasen erhalten. Beim Hormon-naiven Prostatakarzinom mit Knochenmetastasen sollen Bisphosphonate jedoch nicht eingesetzt werden [5], [6].

1.1.4.5 Therapie bei rezidiertem bzw. metastasiertem Prostatakarzinom

Die Behandlung eines Rezidivs beim Prostatakarzinom sollte von den Symptomen, der Lebenserwartung und dem Patientenwunsch abhängig gemacht werden. Entweder kann eine Wait-and-See-Strategie verfolgt werden, bei der je nach Symptomatik behandelt wird. Zum anderen kann, bei kurativem Ansatz, je nach primärer Therapie eine Salvagetherapie

durchgeführt werden. Nach primärer radikaler Prostatektomie wird eine sogenannte perkutane Salvagestrahlentherapie empfohlen. Kommt es zum Rezidiv nach primärer Strahlentherapie bzw. Brachytherapie wird die Salvageprostatektomie bevorzugt.

Prostatakarzinome mit Fernmetastasen (M1) werden als fortgeschritten bzw. metastasiert bezeichnet. Hier besteht die Therapie in der Androgendeprivation (in der Regel medikamentös, z. B. LH-RH-Analoga, LH-RH-Anatgonisten, steroidale Antiandrogene oder eine sogenannte maximale Androgenblockade). Außerdem wird eine Chemotherapie (mit Docetaxel) oder eine antihormonelle Therapie mit Abirateron (off-Label) empfohlen. Dabei handelt es sich stets um einen palliativen Therapieansatz. Ziel ist es die Lebensqualität zu verbessern und das progressionsfreie Überleben zu verlängern. Jedoch kommt es häufig zu Einschränkungen der Libido. Die radikale Prostatektomie hat in die aktuelle S3-Leitlinie keinen Einzug gefunden [32], [5]. [6].

1.1.5 Hormonelle Beeinflussung

Testosterone haben beim Mann vielfältige Wirkungen. Sie bedingen während der Pubertät die Ausbildung der sekundären Geschlechtsmerkmale, Verdickung der Stimmbänder und die Vergrößerung des Kehlkopfes. Schon während der embryonalen und fetalen Entwicklung spielen Testosterone eine wichtige Rolle. Sie fördern Wachstum und Entwicklung von Penis, Samenleiter, Vesikulardrüsen und Prostata. Darüber hinaus fördern sie Libido und Potenz und sind für die Induktion der Spermatogenese verantwortlich [34].

Testosteron ist eines der wichtigsten Sexualhormone beim Mann. Schon im Jahr 1941 zeigten Huggins und Hodges, dass es einen Zusammenhang zwischen der Entstehung von Prostatakarzinomen und Androgenen gibt. Durch Applikation von Hormonen konnten sie eine Zunahme des Wachstums zeigen und durch die Kastration von Patienten wurde die Krankheitsprogression vermindert [11]. Der Nachweis für einen Zusammenhang zwischen der Höhe des Testosteronspiegels und dem

Risiko für ein Prostatakarzinom gelang bisher nicht [35], [36], [37]. Andere Studien zeigten hingegen signifikante Ergebnisse [38].

1.1.6 Histologische Klassifikation

Die WHO hat eine Einteilung der Prostatakarzinome in maligne und potenziell maligne Tumoren vorgenommen [32]. Bei Prostatakarzinomen handelt es sich in rund 95 % um Adenokarzinome mit azinärem Epithel. Sie stellen somit den mit Abstand größten Anteil der Karzinome dar. Seltener werden duktale oder muzinöse Adenokarzinome diagnostiziert, die eine deutlich schlechtere Prognose aufweisen [32].

In Deutschland haben sich für die histologische Differenzierung die Einteilung nach dem Gleason-Score sowie das WHO-Grading durchgesetzt. Die Berechnung des Gleason-Scores wird nach folgendem Prinzip durchgeführt. Dem primär (vorherrschenden) und sekundär (zweithäufigsten) vorzufindenden Drüsenmuster werden Zahlenwerte von 1 bis 5 (1 = gut differenziert, 5 = wenig differenziert, siehe Tabelle 1.1) zugewiesen und anschließend addiert. Aus diesen beiden Gleason-Graden ergibt sich durch Addition der Gleason-Score (min. 2 bis max. 10). In Tabelle 1.1 und Abbildung 1.1 ist die histologische Zuordnung zu den einzelnen Zahlenwerten nochmals detailliert aufgeführt. Aufgrund schwieriger Reproduzierbarkeit sollen die Gleason-Scores 2 bis 4 an Stanzmaterial nicht mehr vergeben werden [33].

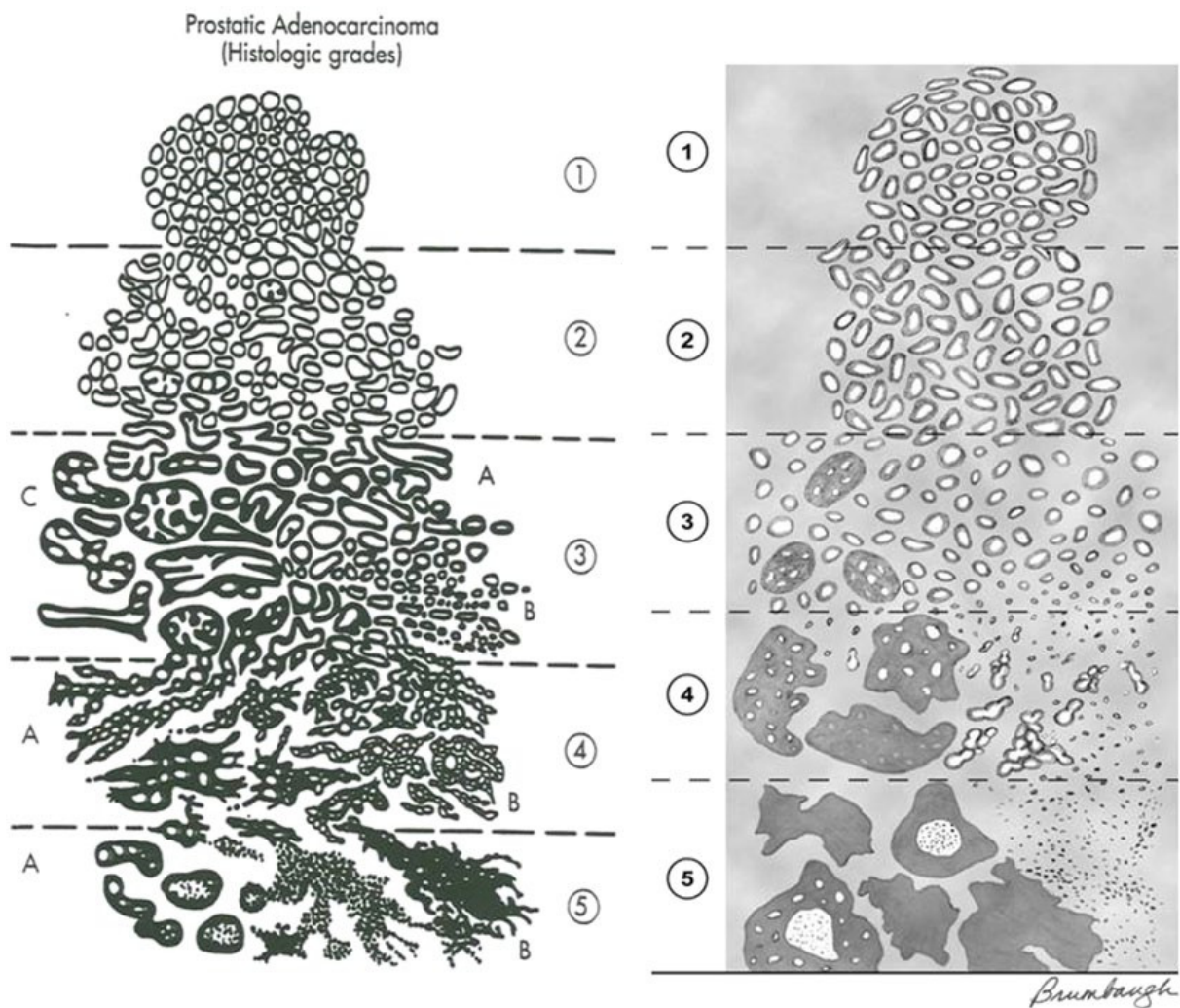


Abbildung 1.1: Gleason-Grading – schematische Darstellung [5]

| Gleason-Grad | Drüsenform | Drüsengröße | Stromainvasion |
|--------------|--|--|-----------------|
| 1 | Einzel, rund | Mittel und dicht gepackt | Keine |
| 2 | Gerundet, variabler als 1 | Mittel, vergrößerter Abstand | Gering |
| 3 | Einzel, unregelmäßig | Variabel, mittel oder groß | Mild bis mäßig |
| 4 | Verschmolzene glanduläre Herde | Klein, verschmolzen | Ausgeprägt |
| 5 | Winzige Drüsen, oder kleine Lumina in soliden Epithelkonglomeraten | Anaplastisch, rundliche Stränge oder Herde | Sehr ausgeprägt |

Tabelle 1.1. Beurteilungskriterien für die Einteilung nach dem Gleason-Score [33]

Die Einteilung der WHO sieht 4 Grade vor (siehe Tabelle 1.2). Die Kategorie G1 steht für gut differenzierte Karzinome, G2 für mäßig differenzierte, G3 für schlecht differenzierte und G4 für undifferenzierte

Karzinome. Zusätzlich gibt es noch die Einteilung GX, die für Tumore steht deren Differenzierungsgrad nicht festgestellt werden kann.

| Tumorgrad | Beschreibung |
|-----------|---|
| GX | Differenzierungsgrad kann nicht bestimmt werden |
| G1 | Gut differenziert |
| G2 | Mäßig differenziert |
| G3-G4 | Schlecht differenziert oder undifferenziert |

Tabelle 1.2. Differenzierung des Prostatakarzinoms der WHO [32]

1.2 Nukleäre Hormonrezeptoren

Bei Kernrezeptoren handelt es sich um Transkriptionsfaktoren. Diese befinden sich in den Zellen und werden mit Hilfe von Hormonen, sogenannten Liganden, aktiviert. Durch Bindung des Hormon-Rezeptor-Komplexes an die Promotorelemente der hormonabhängigen Gene auf der DNA kommt es zur Aktivierung bzw. Hemmung der Transkription. Die DNA-Sequenz, an welcher der Hormon-Rezeptor-Komplex bindet, wird Hormone-Responsive Element (HRE, sogenannte Enhancer bzw. Silencer) genannt. Mit Hilfe von Koregulatoren interagieren die RNA-Polymerase und der Hormonrezeptor. Hierdurch kommt es zur Steigerung oder Hemmung der Transkription der betroffenen Gene [39], [40]. Darüber hinaus spielt die Expression weiterer Koregulatoren in dem jeweiligen spezifischen Gewebe eine entscheidende Rolle bezüglich der Wirkungsverstärkung bzw. -hemmung [41], [42].

Beim molekularen Aufbau der Hormonrezeptoren zeigt sich eine ähnliche Struktur (siehe Abbildung 1.2). Es findet sich eine konstante Region. Auf dieser liegt eine Bindungsstelle für die DNA (siehe Abbildung 1.2: C) sowie für die Liganden (siehe Abbildung 1.2: E). Verbunden werden diese beiden Bindungsstellen durch eine Scharnierregion (siehe Abbildung 1.2: D). An der N- und C-terminalen Region befinden sich variable Aktivierungsdomänen (siehe Abbildung 1.2: A/B und F). Hier können Koregulatoren und die RNA-Polymerase binden. In diesem variablen Abschnitt finden sich Informationen zur Regulation der Genexpression [43].

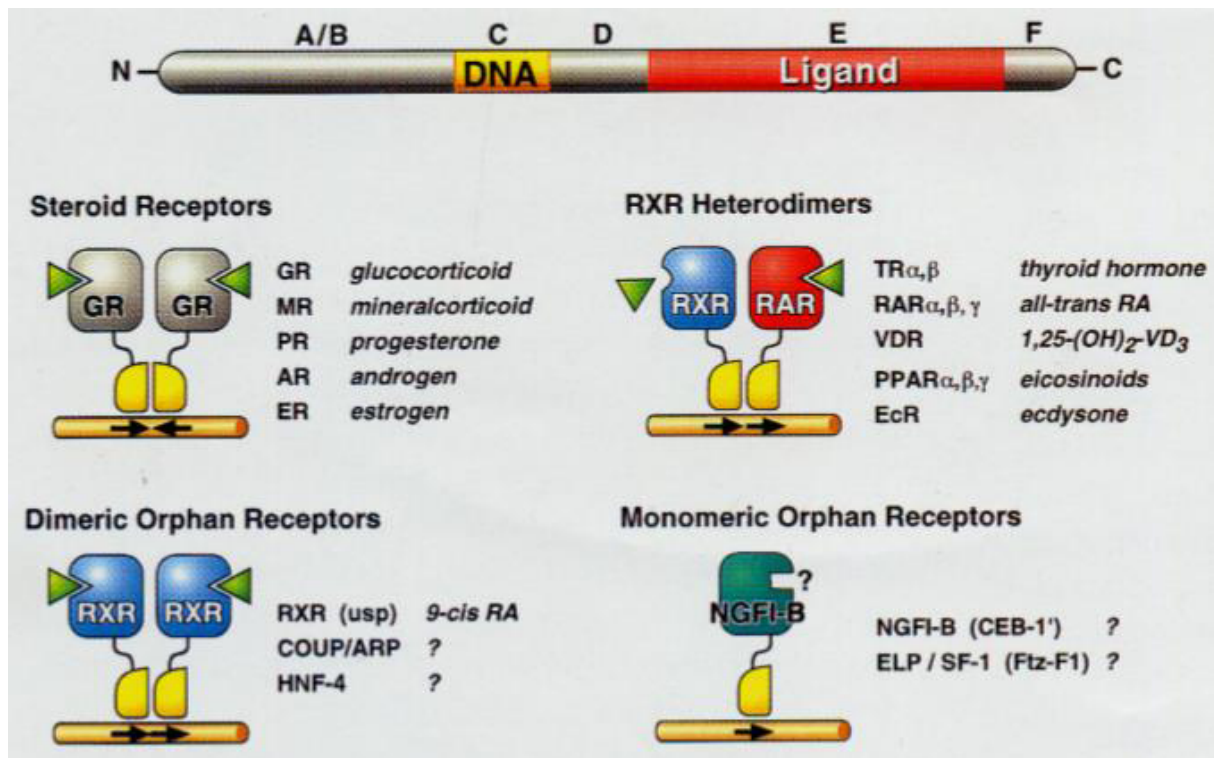


Abbildung 1.2: molekularer Aufbau eines nukleären Hormonrezeptors [44]

Die bisher bekannten Kernrezeptoren binden als Dimere an der DNA. Dabei binden jeweils 2 hormonbeladene Rezeptoren sich zu einem Dimer zusammen und gehen so in ihre aktive Funktion über. Die Dimere detektieren je 2 identische DNA-Sequenzen aus jeweils 6 Basen. Diese Sequenzen können zum einen auf dem gleichen Strang sein (sogenannte direct repeats) oder je eine Sequenz auf beiden Strängen (inverted repeats) (siehe Abbildung 1.3) [34].

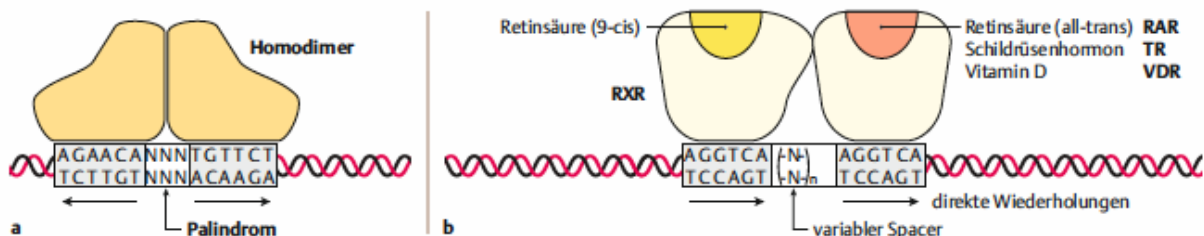


Abbildung 1.3: a. inverted repeats b. direct repeats [39]

Hormonrezeptoren lassen sich in mehrere Gruppen einteilen. Die erste Gruppe umfasst die Steroidhormonrezeptoren. Dazu gehören Glukokortikoide, Mineralokortikoide und Sexualhormone. Sie befinden sich

als Monomere im Zytosol. Solange sich keine Hormone an den Rezeptor binden werden diese durch sogenannte Hitzeschockproteine (Hsp90) stabilisiert da sie ansonsten labil wären. Nach Bindung eines Hormons kommt es zur Bildung eines stabilen Hormon-Rezeptor-Komplexes. Die Hitzeschockproteine können abdissoziieren. Ein Homodimer wird aus 2 hormonbeladenen Rezeptoren gebildet. Dieses Homodimer gelangt in den Zellkern und kann an einer palindromischen DNA-Sequenz binden [45], [39].

Die zweite Gruppe von Rezeptoren umfasst Vitamin D, Schilddrüsenhormone und Retinsäure. Diese liegen bereits im Zellkern vor und sind an die DNA gebunden. Die Hormone diffundieren in den Zellkern und binden direkt an die Rezeptoren. Diese Rezeptoren binden sich an wiederholende Nukleotidsequenzen auf der DNA. Es kommt bevorzugt zur Bildung von Heterodimeren mit Retinoid-X-Rezeptor (RXR) (z. B. RXR-TR, RXR-VDR, usw.) [39], [45].

Bei der dritten Gruppe handelt es sich um die sogenannte Kernrezeptor-Superfamilie („Orphan“-Rezeptoren). Bei einem Großteil dieser Rezeptoren ist noch nicht geklärt durch welche Liganden sie aktiviert werden und welche Funktion die Proteine haben [45], [39].

1.2.1 Östrogenrezeptoren (Estrogen, ER)

Östrogene gehören zu den Steroidhormonen. Sie werden von Männern und Frauen synthetisiert. Im menschlichen Organismus spielen sie eine wichtige Rolle bei der Bildung sowie Ausprägung der Geschlechtsorgane und -merkmale. Gemeinsam mit Testosteron sind sie zusätzlich für das Skelettwachstum wichtig. Es gibt verschiedene Östrogene, von denen Östradiol, Östratriol und Östron die wichtigsten Vertreter sind. Die Synthese findet hauptsächlich im Ovar und der Plazenta sowie in den Testikeln und den Nebennieren statt. Aus Androgenen entsteht über verschiedene Zwischenschritte und mit Hilfe der Aromatase-Reaktion Östradiol [39].

Für Östrogene sind 2 Rezeptoren bekannt: Estrogenrezeptor alpha (ER α) und Estrogenrezeptor beta (ER β) [46]. Durch Bindung von Östrogen an einen Rezeptor ändert sich dessen Struktur. Es bilden sich Dimere die mit erhöhter Affinität an spezifische Sequenzen der DNA binden um die Transkription östrogenabhängiger Gene modulieren zu können [47], [48]. Strukturell ähneln sich die beiden Rezeptoren in gewissen Punkten. Die Domäne die für die DNA-Bindung (C-Domäne) verantwortlich ist, gleicht sich zu 97 %. Die Domänen für die Ligandenbindung (E-Domäne) gleichen sich zu 58 % [49]. Bei den Rezeptoren handelt es sich jedoch nicht um Splicevarianten, da die Gene für beide Rezeptoren an unterschiedlichen Stellen der DNA vorzufinden sind [49], [50]. Sowohl ER α als auch ER β binden Östradiol. Im Verhältnis von ER α zu ER β besteht bei ER β eine höhere Bindungsaffinität zu bestimmten Phytoöstrogenen [46].

Die Signaltransduktion findet zum einen auf dem klassischen Weg über die Rezeptoren statt. Zum anderen ist aber auch eine direkte Wirkung von 17 β -Östradiol auf die DNA beschrieben. Durch direkte Bindung des Östrogens an Transkriptionsfaktoren (z. B. AP-1 Komplex), die sich direkt an der DNA befinden, kommt es zur Aktivierung [51], [52].

Die beiden Östrogenrezeptoren werden zum Teil in unterschiedlichen Geweben exprimiert. ER α findet sich vor allem in Ovar, Vagina, Cervix, Uterus, Mamma, Hypophyse, Leber, Herz und Skelettmuskulatur. ER β lässt sich in Prostata, ZNS, Lunge, Hoden, Ovar und im Urogenitaltrakt nachweisen [53], [46].

In der gesunden Prostata zeigt sich im Stroma und in der Basalzellschicht eine Expression des ER α [54], [55]. ER β konnte in allen Altersklassen im Prostatagewebe nachgewiesen werden. Östrogene scheinen somit sowohl über die Wirkung von ER β , als auch von ER α die Entwicklung und das Wachstum der Prostata zu beeinflussen [56], [57]. Es zeigte sich zudem, dass ER β überwiegend im sekretorischen Epithel und bedeutend geringer in der Basalzellschicht exprimiert wird [58].

Zur Expression der Östrogenrezeptoren beim Prostatakarzinom liegen bisher zahlreiche Studien vor. Hier zeigen sich zum Teil widersprüchliche

Ergebnisse [59], [60], [61], [62]. Neuere Studien weisen darauf hin, dass es im Rahmen der Expressionen der beiden Rezeptoren zu unterschiedlichen Expressionsmustern hinsichtlich der Tumorprogression kommt. So zeigt sich, dass es beim ER α mit zunehmend schlechter Graduierung bzw. zunehmendem Gleason-Score zu einer Zunahme der Expression von ER α kommt [54], [63], [64].

Verschiedene Untersuchungen des ER β deuten darauf hin, dass es mit zunehmendem Gleason-Score, zu einer Abnahme der Expression des Rezeptors kommt [65], [66], [67], [59]. Die Expressionsraten schwanken hierbei von 23 % bis 92 % [65], [68]. In einer immunhistochemischen Studie von 2003 konnte der Rezeptor zwar in allen Prostatakarzinomen nachgewiesen werden, eine Korrelation hinsichtlich der Tumorprogression ließ sich hierbei jedoch nicht feststellen [58].

Von ER β finden sich 5 Splicevarianten: ER β 1 bis ER β 5 [69]. Die einzelnen Splicevarianten haben zum Teil unterschiedliche Auswirkungen auf die Tumorprogression des Prostatakarzinoms [70], [66]. Gemäß verschiedener Literaturangaben nimmt die in dieser Arbeit untersuchte Splicevariante ER β 1 eine protektive Rolle ein. So lässt sich bei Yang et al. mit Zunahme des Gleason-Score eine Abnahme der Expression von ER β 1 beobachten [64]. Bei Dey et al. zeigt sich, dass es durch ER β 1 zu einer Downregulation von c-Myc und p45Skp2 bei ossären Metastasen kommt und ER β 1 somit zu einer Suppression der Proliferation führt [70].

Demgegenüber stehen Daten, aus denen hervor geht, dass es durch eine Östrogen induzierte Komplexbildung von ER β 1, AR (Androgenrezeptor) und PELP1 (proline-, glutamic acid-, and leucine-rich cofactor protein 1) zu einer Tumorprogression im Prostatakarzinom kommt. Dieser Komplex bindet an das DNA-Responsive-Element und führt so zur Proliferation von Prostatakarzinomzellen. Hier nimmt ER β 1 eine onkogene Wirkung ein [71]. In einer Studie von Zellweger et al. ist eine erhöhte Expression von ER β 1 mit einem höheren Gleason-Score und größerer Proliferation assoziiert [72]. Bei Horvath et al. wird eine Abnahme des ER β vom gesunden Gewebe hin zum Karzinom beobachtet. Demgegenüber steht

allerdings ein signifikant verkürztes progressionsfreies Überleben hinsichtlich der ER β -Expression [68].

Im Tiermodell lässt sich die kanzerogene Wirkung von Östrogenen auf das Prostataepithel zeigen. Dieser Effekt wird am ehesten durch den ER α vermittelt. Im Rahmen eines Tierversuches konnte mit Hilfe von ER α Knockout-Mäusen (aERKO) gezeigt werden, dass es bei diesen Mäusen, im Gegensatz zum Wildtyp, unter Östrogentherapie nicht zur Tumorentwicklung kam. Im Gegensatz dazu zeigt sich bei ER β Knockout-Mäusen keine Veränderung beim Auftreten von Tumoren im Vergleich zu Wildtyp Mäusen [73].

1.2.2 Retinoid-X-Rezeptor alpha (RXR α)

Vitamin A gehört zu der Gruppe der fettlöslichen Vitamine. Die Bezeichnung umschließt alle chemischen Verbindungen, die die gleiche biologische Aktivität wie Retinol umfassen. Hingegen umfasst der Begriff Retinoide alle natürlich vorkommenden Varianten von Vitamin A sowie zusätzlich synthetische Analoga. Retinol spielt bei zahlreichen biologisch essentiellen Vorgängen eine wichtige Rolle: Sehvorgang, Reproduktion, Embryogenese, Morphogenese sowie Zellwachstum und -differenzierung [34].

Vitamin A kann nicht vom Körper synthetisiert werden und muss deshalb über die Nahrung aufgenommen werden. Rund die Hälfte des benötigten Bedarfs wird über Tierprodukte aufgenommen. Die andere Hälfte wird mit Hilfe von verschiedenen Gemüsearten dem Organismus zugeführt [74].

Hinsichtlich der Rezeptoren gibt es 2 verschiedene Gruppen. Zum einen Retinoid-X-Rezeptor $\alpha/\beta/\gamma$ (RXR $\alpha/\beta/\gamma$) und Retinoic-Acid-Rezeptor RXR $\alpha/\beta/\gamma$ (RAR $\alpha/\beta/\gamma$). Bei beiden liegen jeweils 3 Isoformen vor ($\alpha/\beta/\gamma$). RXR wird durch 9-cis-Retinsäure und RAR durch die all-trans-Retinsäure aktiviert [34].

RXR kann sowohl Homo- als auch Heterodimere ausbilden. Häufig bildet RXR mit 9-cis-Retinsäure als Liganden ein Homodimer. Daneben ist es aber auch möglich als Heterodimer mit RAR, VDR (Vitamin-D-Rezeptor)

und PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) ein Heterodimer zu bilden und so an die entsprechende Erkennungssequenz zu binden um die Transkription zu aktivieren. Retinsäure hat direkt oder indirekt auf die Regulation von mindestens 27 Genen Einfluss [34], [75].

Als Heterodimer übernimmt RXR die Funktion eines Suppressors. Es wirkt hierbei einer gegensinnigen Gentranskription durch die Kernrezeptoren regulierend entgegen [40]. Eine spezifische Funktion nimmt RXR an der Haut ein. Fehlt RXR α kommt es zur Hyperplasie des Hautgewebes [76].

Eine weitere wichtige Funktion übernimmt RXR α , aktiviert durch seine Liganden, als Homodimer. Es führt zur gesteigerten Expression von p21. Dieses Protein nimmt eine entscheidende Rolle bei der Kontrolle des Zellzyklus ein. Dabei erfüllt es eine tumorprotektive Wirkung indem es den Zellzyklus induziert. Als Gegenspieler tritt hier RAR auf. Es konkurriert um die Homodimerisation und führt damit den Zellzyklusarrest durch p21 [77].

Retinoide haben neben ihrer Wirkung an der DNA auch Einfluss auf andere Vorgänge in unserem Organismus. Durch die Interaktion mit NF- κ B nehmen sie Einfluss auf die Kanzerogenese [78]. Weiterhin wird durch die Anlagerung von RAR α an die mRNA, für einen Glutamat-Rezeptor 1, dessen Transkription verhindert. Bindet nun Retinsäure an RAR α wird die mRNA frei und die Suppression somit aufgehoben [79].

Bei der Therapie unterschiedlicher Krankheiten spielen Retinoide zum Teil eine zentrale Rolle. Sie sind Bestandteil bei der Therapie von Akne, Psoriasis sowie bei der Chemoprävention und Behandlung einiger Malignome [80]. Bei Tumoren nehmen vor allem die RAR α bindenden Retinoide eine bedeutende Funktion ein. Durch Anlagerung an den sogenannten Todesrezeptor TRAIL in Tumorzellen, induzieren sie die Apoptose [81]. Gerade für die Therapie der Promyelozytenleukämie (APL) haben sie einen zentralen Stellenwert. Hierbei kommt es zu einer Translokation des Gens für RAR α im Bereich eines APL-assoziierten Locus [82]. Aber auch bei Mamma-, Bronchial- und Oralkarzinomen werden Retinoide therapeutisch genutzt [83], [84]. Für 9-cis-Retinsäure liegen

präklinische Studien vor, nach welchen es chemoprotektiv gegen das Mamma- und Prostatakarzinom wirkt [85].

Bisherige Untersuchungen zur Expression des RXR α im Prostatakarzinom zeigen, dass es in nahezu allen Fällen, unabhängig von der Graduierung bzw. Gleason-Score, zur Expression von RXR α kommt. In den meisten Studien ergibt sich kein Zusammenhang zwischen der Expression des Rezeptors und der Tumorprogression [86], [87], [88]. Bei einer Studie hingegen zeigte sich mit zunehmendem Gleason-Score eine Abnahme der Expression von RXR α [89].

1.2.3 Thyroidhormonrezeptoren (THR)

In der Schilddrüse wird zum Großteil das inaktive Hormon Thyroxin (T4) und zu einem geringen Anteil das Hormon Trijodthyronin (T3) synthetisiert. Die Synthese unterliegt einem Regelkreislauf. Dieser wird durch die Hormone aus dem Hypothalamus (TRH) und der Hypophyse (TSH) reguliert. Durch einen negativen Rückkopplungs-Mechanismus wird der Hormonhaushalt im Gleichgewicht gehalten (siehe Abbildung 1.4). Mit Hilfe von spezifischen Transportern werden T3 und T4 ins Innere der Zelle transportiert. Dort findet die Umwandlung von T4 zum aktiven T3 statt [90], [39].

Die Aufgabe der Schilddrüsenhormone (T3 und T4) ist sehr vielfältig. Unter anderem dienen sie Zellwachstum und -proliferation. Sie erhöhen den Grundumsatz, steigern den Glukosestoffwechsel, fördern den Knochenstoffwechsel sowie das Wachstum des Gehirns. Sie führen zur verstärkten Kontraktionskraft der Herzmuskulatur und damit auch zur Steigerung des Herzzeitvolumens [91], [39].

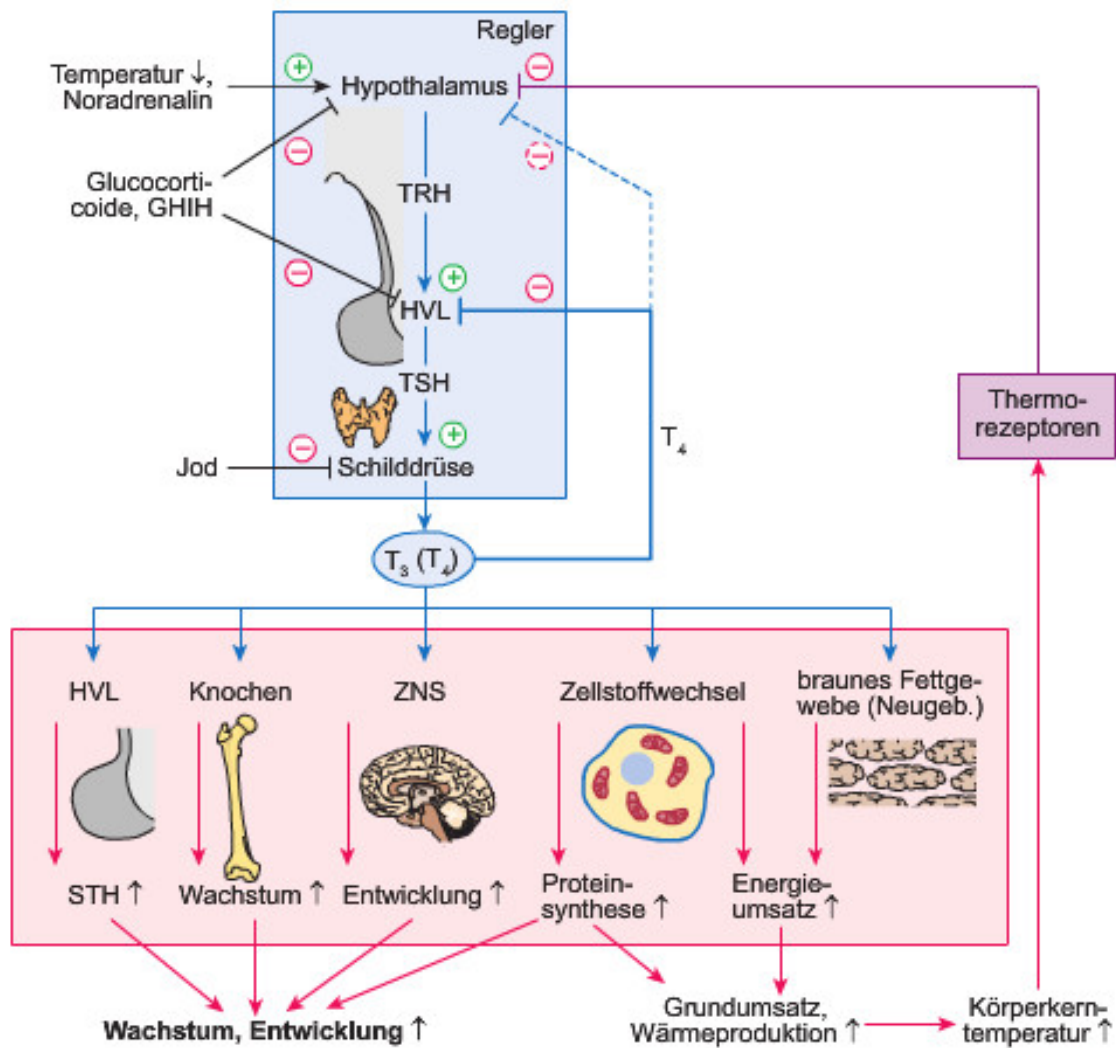


Abbildung 1.4: Regulation der Schilddrüsenhormone [92]

Die Thyroidhormonrezeptoren (THR) befinden sich neben dem Zellkern auch im Zytoplasma, an Mitochondrien und an der Zytoplasmamembran. Die Bindungsaffinität der Rezeptoren gegenüber T₃ ist 15 Mal höher im Vergleich zu T₄. Die Rezeptoren für T₃ und T₄ werden auf 2 Genen kodiert. Das THRA-Gen befindet sich auf Chromosom 17 und kodiert THRA1 sowie 2 Splicevarianten (THRA2 und THRA3). Jedoch kann die Splicevariante THRA1 nur T₃ binden. Das entsprechende Gen wird hauptsächlich in Herz, Gehirn und Knochen transkribiert. Das THRB-Gen befindet sich auf Chromosom 3. Es kodiert für die Rezeptoren THRB1, THRB2 und THRB3 und wird überwiegend in der Schilddrüse und der Niere abgelesen wobei alle T₃ binden [93].

Nachdem sich ein Hormon/Ligand an einen THR gebunden hat kommt es zur Bildung von Dimeren. Die THRA-Rezeptoren bilden ausschließlich

Heterodimere das heißt, dass sich 2 hormonbeladene Rezeptoren, jeweils mit einem anderen hormonbeladenen Rezeptor, zu einem Komplex verbinden. Vorrangig dient hierbei RXR als Dimerisationspartner [94]. Diesem steht neben dem THR auch PPAR γ als Bindungspartner zur Verfügung, wodurch es zur Konkurrenz zwischen THR und PPAR γ um RXR kommt [95].

THR β -Rezeptoren bilden hingegen sowohl Heterodimere als auch Homodimere aus. Bei letzterem bilden zwei, mit denselben Hormonen beladene Rezeptoren ein sogenanntes Homodimer aus [96].

An Knockout-Mäusen konnte gezeigt werden, dass die einzelnen Isoformen unterschiedliche Bedeutung für den Organismus haben. Bei Verlust des THR α 1-Gens zeigen sich Störungen im Herz-Kreislauf-System [97]. Wohingegen der Verlust des THR β -Gens zu Fehlbildungen im Bereich der visuellen und akustischen Sinnesorgane führt [98].

Die Thyroidhormonrezeptoren wirken nicht nur an der DNA, über die Aktivierung des PI3K-Signalwegs durch die Phosphorylierung von Akt/PKB können sie durch die Genexpression unabhängig von einer direkten Bindung an der DNA beeinflussen [99]. Hierdurch lässt sich beispielsweise die Synthese des hypoxieinduzierten Faktors (HIF1 α) induzieren. Dieser spielt für die Progression und Mortalität von Tumoren eine entscheidende Rolle [100].

Für den menschlichen Organismus sind Schilddrüsenhormone essentiell. Sowohl Hyper- als auch Hypothyreose führen zu pathologischen Veränderungen in verschiedenen Organsystemen. Im Rahmen einer Hyperthyreose kann es zu Vorhofflimmern, Palpitationen, Tachykardien, Schlaflosigkeit, Schwitzen und Gewichtsverlust kommen [101], [39]. Eine Hypothyreose hingegen führt zu leichter Ermüdbarkeit, Konzentrationsschwäche, Anämie, Atherosklerose, Bluthochdruck und Hypercholesterinämie [39], [101]. Die Unterversorgung eines Feten mit Schilddrüsenhormonen kann zu geistiger Retardierung und Minderwuchs

führen, wohingegen eine Überfunktion Osteoporose verursacht [102], [39].

Auch bei der Kanzerogenese spielen die Schilddrüsenhormone eine wichtige Rolle. Eine erhöhte Inzidenz für Kolon-, Mamma- sowie Bronchialkarzinom zeigt sich bei einer Hyperthyreose. Hier wird Tumorwachstum und Metastasierung stimuliert [103].

Das BTG2-Gen ist ein Tumorsuppressor, welches den Zellzyklus reguliert. Tsui et al. beobachteten, dass T3 zu einer erhöhten Proliferation des Prostatakarzinoms führt indem es eine Downregulation des BTG2-Gens (B-cell translocation gene 2) bewirkt [104].

Im Rahmen einer Hyperthyreose lässt sich beim Prostatakarzinom ebenso wie bei den oben erwähnten Karzinomen eine erhöhte Inzidenz beobachten. Nach Unterteilung in 3 Risikogruppen (Gleason < 6, Gleason = 7, Gleason > 7) fand sich für die Gruppe Gleason > 7 ein signifikant erhöhter T3 Wert. [105] [103], [106]. In einer weiteren Studie zeigt sich zudem, dass die mRNA von Schilddrüsenhormonrezeptoren in der menschlichen Prostata erhöht exprimiert wird [107].

Untersuchungen (Immunzytochemie und Westernblot) bezüglich des THR β zeigen, dass es in Karzinomzellen sowie in gesunden Prostatazellen zu einer Expression des Rezeptors kommt. Untersuchungen von Hsieh et al. ergaben, dass sich Schilddrüsenrezeptoren an der Kernmembran des Prostataparenchyms befinden [91].

1.2.4 Vitamin-D-Rezeptor (VDR)

Das Vitamin D (Calciferol) gehört zu den Steroiden. Der Begriff Vitamin D umfasst unter anderem auch Vitamin D2 (Ergocalciferol) und Vitamin D3 (Cholecalciferol) [39].

Die Aufnahme in den Körper erfolgt über die Nahrung (z. B. in Fischen wie Lachs, Sardinen oder in Milchprodukten), zum anderen kann in der Haut Vitamin D mit Hilfe von UVB-Strahlen synthetisiert werden. Die weitere Synthese zu biologisch aktiven 1,25 Dihydroxycholecalciferol und 1,25-

Dihydroxyergocalciferol findet in Niere und Leber statt [39], [108]. Diese binden an den Vitamin-D-Rezeptor (VDR). Durch Bildung eines Dimers mit RXR gelangt der Komplex in den Zellkern und ist in der Lage an bestimmte Promotorregionen der DNA zu binden [109], [110]. Derzeit sind 2.776 Positionen an der DNA bekannt, an denen VDR binden kann. Es kann die Transkription von 229 Genen beeinflusst werden [111]. Dadurch werden verschiedene Mechanismen in Gang gesetzt. Vitamin D bewirkt im Darm die Resorption von Kalzium und Phosphat; in der Niere findet die Rückresorption von Kalzium statt und in den Osteoklasten der Knochen werden sowohl Kalzium als auch Phosphat bereit gestellt [39], [108]. Zusätzlich wird die Synthese des Kalziumtransportproteins Kalbindin induziert [110].

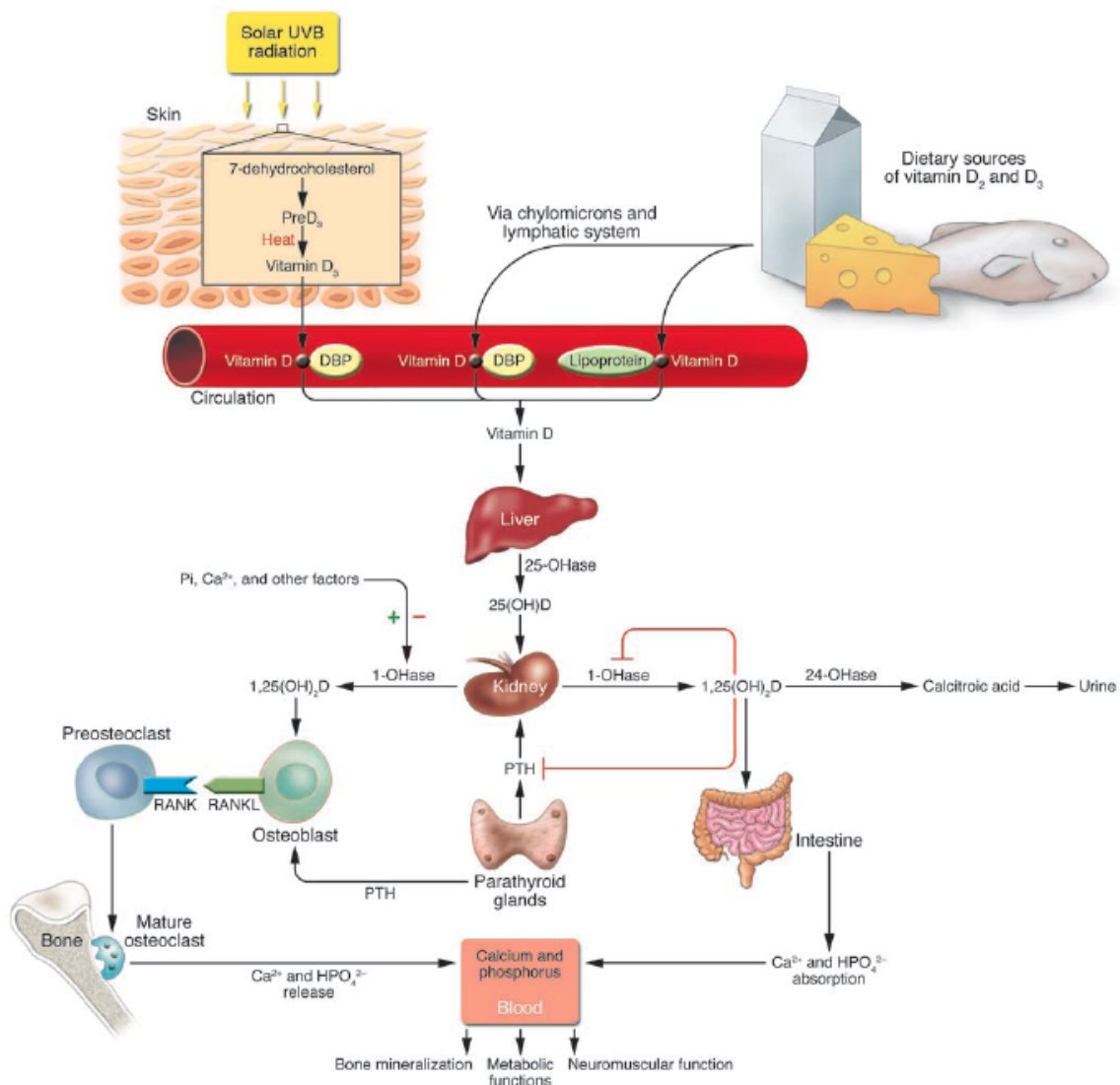


Abbildung 1.5: Metabolismus und Funktion von Califerol [108]

Bisher gelang es den VDR in über 30 Organen nachzuweisen (z. B. Prostata, Knochen, Darm, Blut, Mamma, Niere). Neben der bereits oben erwähnten Aufgabe im Knochenstoffwechsel übernimmt das Hormon auch Aufgaben bei der Immunantwort, sowie der Differenzierung und Proliferation von Zellen [112]. Oft liegen die Loci für VDR in der Nähe von Genen die autoimmun- oder karzinomassoziiert sind [111].

Vitamin D hat zudem eine antiproliferative, antiangiogenetische und antiinflammatorische Wirkung. Es ist in der Lage Apoptose und Zelldifferenzierung einzuleiten. Dies geschieht durch Induktion des Zellzyklusarrest und anderer Signalwege wie z. B.: hedgehog, TGF- β und IGFBT-3. Gegenstand derzeitiger Forschung ist die von der DNA unabhängige Wirkung von Vitamin D auf den Organismus [113].

Vitamin D nimmt bei der Genese des Prostatakarzinoms eine entscheidende Rolle ein. Ein Mangel an Vitamin D kann zur Entstehung eines Karzinoms beitragen. Vitamin D3 hat zudem einen antiproliferativen Effekt auf maligne Zellen [114].

Bereits in früheren Studien zeigt sich der VDR in gesunden und malignen Prostatazellen, vor allem im Zellkern [115], [116]. An einer kleinen Gruppe von Karzinomzellen konnte mit Hilfe eines mRNA Protection Assays die mRNA der Vitamin-D-Rezeptoren nachgewiesen werden [117]. In einer neueren Studie zeigt sich, dass mit zunehmendem Gleason-Score die Expression des VDR abnimmt. In dieser Studie ist jedoch nur eine Färbung des Zytoplasmas im Tumorgewebe nachweisbar [118].

1.2.5 Progesteronrezeptor (PR)

Neben den Östrogenen gehört auch Progesteron zu der Gruppe der Steroidhormone. Es entsteht während der Synthese von Steroidhormonen als Zwischenprodukt. Im Blut wird es an Transcortin gebunden transportiert. Progesteron spielt für den weiblichen Organismus eine entscheidende Rolle. Es nimmt eine wichtige Rolle bei der Nidation ein und ist entscheidend für die Aufrechterhaltung der Schwangerschaft. Auch bewirkt es einen Anstieg der Körpertemperatur und weiterer spezifischer

Anpassungsprozesse des weiblichen Organismus während der Schwangerschaft. Auch während der Corpus-luteum-Phase im Menstruationszyklus der Frau spielt Progesteron eine wichtige Rolle [39]. Beim Mann übernimmt Progesteron Aufgaben bei der Regulation der Spermio-genese, der Testosteronsynthese in den Leydig-Zellen, der Akrosomenreaktion sowie bei der Spermienkapazität [119].

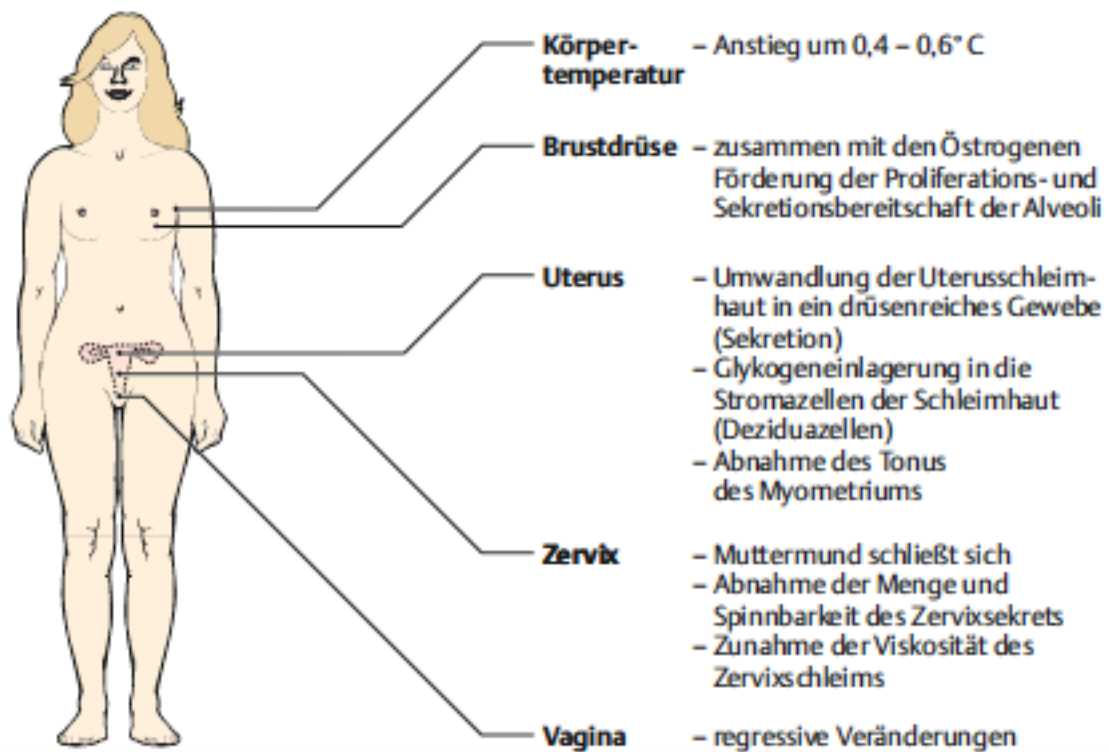


Abbildung 1.6: Wirkung von Progesteron auf den weiblichen Organismus [39]

Progesteron bindet an den Progesteronrezeptor (PR), wobei 3 verschiedene Isoformen vorliegen: PR-Isoform A, PR-Isoform B, PR-Isoform C. Sie unterscheiden sich durch ihre N-terminale Aminosäuresequenz, die jeweils unterschiedlich lang ist. Die Bedeutung und klinische Relevanz von PR-Isoform C ist jedoch noch nicht hinreichend geklärt [120], [121], [122], [123].

Durch die Bindung von Progesteron an den PR kommt es zu einer Konformationsänderung. Dabei entstehen Homo- und Heterodimere. Diese binden an spezifische Response-Elemente der DNA, sodass entsprechende Gene abgelesen und transkribiert werden können. Entscheidend hierbei ist, dass Homodimere auf eine größere Anzahl von Genen und auf andere Gene Einfluss nehmen als Heterodimere [123], [124], [125], [126]. Die

Transkription der Gene wird zudem durch Kopplung weiterer Co-Regulatoren beeinflusst. Diese binden an aktivierende bzw. inhibierende Funktionselemente [126], [127], [124]. Die Relationen der Co-Regulatoren variieren je nach Gewebe. Dies erklärt auch warum Progesteron in den verschiedenen Gewebetypen eine andere Wirkung hervorrufen kann [126], [128]. Von diesen Co-Faktoren sind über 300 Stück bekannt. Diese besitzen unterschiedliche Affinität zu den PR-Isoformen, was zusätzlich die Wirkungsvielfalt von Progesteron erklärt [124], [126].

Für PR liegen bereits einige immunhistochemische Untersuchungen vor [129], [130], [131], [132], [133]. So zeigt sich in den meisten Studien keinerlei bzw. eine nur sehr geringe Expression des Rezeptors [132], [134], [129], [135]. Lediglich in einer Untersuchung mit wenigen Probanden wurde eine Expression des Rezeptors in 60 % der Fälle beschrieben [130].

Untersuchungsergebnisse aus Studien, die andere Untersuchungsverfahren (ELISA und rt-PCR) anwenden, lassen vermuten, dass es lediglich zu einer geringen Expression des PR kommt [136], [137].

2 Fragestellung

Lassen sich die untersuchten Hormonrezeptoren im Prostatakarzinom nachweisen?

Wenn ja, wie stellt sich das Expressionsverhalten in Bezug zu anderen bisher untersuchten Gewebe dar?

Korrelieren die untersuchten Hormonrezeptoren mit der Graduierung bzw. mit dem Gleason-Score?

Zeigt sich eine Korrelation zwischen dem Überleben und der Expression der Hormonrezeptoren?

3 Material und Methoden

3.1 Material und Patientenkollektiv

3.1.1 Zusammenstellung des Patientenkollektivs

Das Patientenkollektiv besteht aus 177 männlichen Patienten mit primärem Prostatakarzinom, dass im Zeitraum von 2004 bis 2007 sowie im Jahr 2012 an der Urologischen Klinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität behandelt wurde.

Bei 5 Patienten (2,8 %) liegt ein Gleason-Score von 5, bei 61 (34,5 %) ein Gleason-Score von 6, bei 80 (45,2 %) ein Score von 7, bei 13 (7,3 %) ein Gleason-Score von 8 , bei 16 (9,0 %) ein Gleason-Score von 9 und ein Gleason-Score von 10 liegt bei 2 Patienten (1,1 %) vor.

Das untersuchte Gewebe stammt aus dem Archiv des Pathologischen Instituts der Ludwig-Maximilians-Universität. Das Material wurde nach Abschluss der Diagnostik untersucht. Die Patientendaten wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit vollanonymisiert.

Nach Durchsicht der Schnittpräparate wurde je ein Paraffinblock mit möglichst hohem Anteil an repräsentativen Tumorgewebe ausgewählt. Mit Hilfe eines Mikrotoms wurde eine ausreichende Anzahl von Schnitten für die immunhistochemischen Färbungen angefertigt. Bei den Fällen 96 und 103 war es nötig 2 Schnitte auszuwählen um ausreichend Tumorgewebe beurteilen zu können.

Für jeden Hormonrezeptor (ER α , ER β , VDR, PR, RXR α , THR α 1/2 und THR β) wurden die entsprechenden Schnitte immunhistologisch gefärbt, sodass pro Färbung 179 Schnitte vorliegen.

Die tumorrelevanten Daten wie Graduierung, TNM-Klassifikation, Operationsdatum, Alter, Geburtsdatum stammen aus den Datenbanken des Pathologischen Instituts der LMU und des Tumorregisters München.

Die Follow-up-Daten stammen aus dem Tumorregister München. Bedingt durch den kurzen Nachbeobachtungszeitraum der Tumorgruppe liegen für die Zeit von 2004 bis 2012 nur von 31,6 % der Patienten die Überlebensdaten vor.

In der nachfolgenden Tabelle (3.1) finden sich Patientencharakteristika des Gesamtkollektives.

Die Einteilung erfolgte nach der zum Zeitpunkt der Befundung üblichen TNM-Klassifikation UICC (Union of International Cancer Control) 2009. Zu diesem Zeitpunkt erfolgte noch keine Einteilung des Gleason-Scores in 7a und 7b [138].

| | Häufigkeit | Prozent (%) |
|--|------------|-------------|
| Grading | | |
| G1 | 0 | 0 |
| G2 | 65 | 36,7 |
| G3 | 112 | 63,3 |
| Gleason-Score | | |
| 5 | 5 | 2,8 |
| 6 | 61 | 34,5 |
| 7 | 80 | 45,2 |
| 8 | 13 | 7,3 |
| 9 | 16 | 9,0 |
| 10 | 2 | 1,1 |
| Histologie | | |
| Adenokarzinom (azinär) | 157 | 88,7 |
| Adenokarzinom (duktal) | 5 | 2,8 |
| Adenokarzinom (klarzellig) | 2 | 1,2 |
| PIN III (prostatistische intraepitheliale Neoplasie) | 3 | 1,7 |
| Tubuläres Adenokarzinom | 5 | 2,8 |
| unbekannt | 5 | 2,8 |
| Lymphknoten | | |
| positiv | 10 | 5,7 |
| negativ | 130 | 73,4 |
| unbekannt | 37 | 20,9 |

Tabelle 3.1: Gesamtkollektiv Übersichtsdaten

3.1.1.1 Alter bei Diagnose

Der Median des Gesamtkollektives liegt bei 65,43 Jahren und der Mittelwert bei 64,63 Jahren. Zur Erhebung der Daten wird das Alter der Patienten zur Diagnosestellung genutzt.

3.1.1.2 Graduierung

Bei der Graduierung im gesamten Patientenkollektiv ergibt sich folgendes Bild: Es gibt keine Fälle mit einem gut differenzierten Tumor (G1). Bei 65 Karzinomen (36,7 %) handelt es sich um mäßig differenzierte Tumoren (G2). Der größte Anteil (112 Patienten, entspricht 63,3 %) der Karzinome weist schlecht differenziertes Tumorgewebe (G3) auf.

| Grading | Häufigkeit | Prozent (%) |
|---------|------------|-------------|
| G1 | 0 | 0 |
| G2 | 65 | 36,7 |
| G3 | 112 | 63,3 |
| Gesamt | 177 | 100,0 |

Tabelle 4.2: Grading Gesamtkollektiv

3.1.1.3 Gleason-Score

5 (2,8 %) Patienten haben ein Prostatakarzinom mit einem Gleason-Score von 5. 61 Männer (34,5 %) weisen einen Wert von 6 auf. Bei weiteren 80 Männern (45,2 %), damit dem größten Anteil, zeigt sich ein Score von 7. Ein Gleason-Score von 8 errechnet sich bei 13 (7,3 %) Patienten und bei 16 (9,0 %) ein Score von 9. Die übrigen 2 Patienten zeigen den Höchstwert von 10.

| Gleason-Score | Häufigkeit | Prozent (%) |
|---------------|------------|-------------|
| 5 | 5 | 2,8 |
| 6 | 61 | 34,5 |
| 7 | 80 | 45,2 |
| 8 | 13 | 7,3 |
| 9 | 16 | 9,0 |
| 10 | 2 | 1,2 |
| Gesamt | 177 | 100,0 |

Tabelle 4.3: Gleason-Score Gesamtkollektiv

Zur statistischen Auswertung werden zusätzlich Scoregruppen folgendermaßen zusammengefasst: Die erste Gruppe umfasst die Patienten mit einem Gleason-Score kleiner gleich 6 (bei diesem Patientenkollektiv Gleason-Score 5 und 6), die zweite Gruppe mit dem

Gleason-Score von 7 und eine dritte Gruppe mit Werten größer gleich 8 (hier die Gleason-Werte 8,9 und 10). Diese Einteilung wird oft klinisch zur Prognoseabschätzung des Prostatakarzinoms durchgeführt [5].

| Gleason-Score in 3 Gruppen | Häufigkeit | Prozent (%) |
|----------------------------|------------|-------------|
| ≤ 6 | 66 | 37,3 |
| 7 | 80 | 45,2 |
| ≥ 8 | 31 | 17,5 |
| Gesamt | 177 | 100,0 |

Tabelle 4.4: Gleason-Score Gesamtkollektiv in Gruppen ≤ 6, 7, ≥ 8

3.1.1.4 Lymphknoten

130 Fälle (73,4 %) weisen keinen Befall der Lymphknoten auf. Bei 10 der Karzinome (5,7 %) liegt ein Befall der Lymphknoten vor. In den übrigen 37 Fällen (20,9 %) werden keine Lymphknoten reseziert, sodass keine Daten zur Lymphknotenbeteiligung vorliegen.

| Lymphknoten | Häufigkeit | Prozent (%) |
|-------------|------------|-------------|
| positiv | 10 | 5,7 |
| negativ | 130 | 73,4 |
| unbekannt | 37 | 20,9 |

Tabelle 4.5: Lymphknotenstatus Gesamtkollektiv

3.1.2 Untersuchungsmaterial

3.1.2.1 Geräte und Verbrauchsmaterial

| Gerät | Hersteller |
|------------------|---|
| Mikroskop | Leitz Diaplan (Wetzlar, Deutschland) |
| Kamera | JVC KY-F55BE (Japan) |
| Kochfeld | Rommelsbacher THL 2597 (Dinkelsbühl, Deutschland) |
| Schnellkochtopf | Fissler GmbH (Deutschland) |
| Objekträger | Thermo Scientific, Superfrost Plus, Objekträger (Braunschweig, Deutschland) |
| Pipetten | Eppendorf AG, (Hamburg, Deutschland) |
| Pippettenspitzen | Biozym (Hessisch Oldendorf, Deutschland) |
| Zentrifuge | Minispin, Eppendorf AG (Hamburg, Deutschland) |
| Vortex | Genie 2, Bender & Hobein, (Zürich, Schweiz) |
| Mikrotom | Rotationsmikrotom, Thermofisher Scientific (Waltham, Massachusetts, USA) |
| Autostainer | VENTANA BenchMark (Roche Diagnostics, Penzberg, Germany) |

Tabelle 3.1. verwendete Laborgeräte

3.1.2.2 Chemikalien

| Chemikalie | Hersteller |
|-------------------------------------|--|
| H ₂ O (steril) | Aqua ad iniectabilia, B. Braun Melsungen Ag (Melsungen, Deutschland) |
| PBS-Puffer | PAA Laboratories, (Pasching, Österreich) |
| Methanol | Sigma-Aldrich (Steinheim, Deutschland) |
| Mayers Hämalun | AppliChem GmbH (Darmstadt, Deutschland) |
| Wasserstoffperoxid | VWR International S.A.S. (Frankreich) |
| Citronensäure | Merck (Darmstadt, Deutschland) |
| Natrium-Citrat | Merck (Darmstadt, Deutschland) |
| Liquid DAB+ Substrate | Dako (Carpinteria, USA) |
| Antibody Diluent | Dako (Carpinteria, USA) |
| Vectastain ABC Kit Rabbit IgG | Vector Laboratories (Burlingame, USA) |
| Vectastain ABC Kit Mouse IgG | Vector Laboratories (Burlingame, USA) |
| Power Block | BioGenex (San Ramon, USA) |
| Xylol | Roth (Karlsruhe, Deutschland) |
| Ethanol | Ludwig-Maximilians-Universität, Apotheke Innenstadt |
| Natriumchlorid | Merck (Darmstadt, Deutschland) |
| Kaliumhydroxid Plättchen | Merck (Darmstadt, Deutschland) |
| Kaliumdihydrogenphosphat | Merck (Darmstadt, Deutschland) |
| Di-Natriumhydrogenphosphat-Dihydrat | Merck (Darmstadt, Deutschland) |
| Eukitt | VWR (Darmstadt, Deutschland) |
| ZytoChem Plus HRP Polymer System | Zytomed Systems (Berlin, Deutschland) |
| H ₂ O | Noll (München, Deutschland) |
| Negative Control Mouse IgG1 | Dako, (Carpinteria, USA) |

Tabelle 3.2. verwendete Chemikalien

3.1.2.3 Antikörper

| Name | Verdünnung | Eigenschaften | Firma |
|--------------------------|------------|--|--------------------|
| Anti-THR alpha 1/2 | 1:800 | Polyklonaler Kanninchen-IgG-Antikörper | Abcam |
| Anti-THR beta | 1:200 | Polyklonaler Kanninchen-IgG-Antikörper | Zytomed |
| Anti-Vitamin D | 1:100 | Monoklonaler Maus-IgG2a-Antikörper | Serotec |
| Anti-Oestrogen beta 1 | 1:700 | Monoklonaler Maus-IgG-Antikörper | Serotec |
| Anti-RxR alpha | 1:400 | Monoklonaler Maus-IgG-Antikörper | Perseus Proteomics |
| Anti-Oestrogen alpha SP1 | | Monoklonaler Kanninchen-IgG-Antikörper | Ventana |
| Anti-Progesteron 1E2 | | Monoklonaler Kanninchen-IgG-Antikörper | Ventana |

Tabelle 3.3. verwendete Antikörper

3.2 Gewebefixierung, Zuschnitt und Einbettung

Die bei der Operation gewonnenen Präparate werden nach ihrer Entnahme sofort in 4 %igem, neutral gepuffertem Formalin für 24 Stunden fixiert. Ziel der Fixierung ist es, die Enzyme zu inaktivieren, die für die Autolyse des Gewebes verantwortlich sind. Der Zuschnitt des entnommenen Gewebes (radikale Prostatektomie und Prostatstanzzylinder) erfolgt im Rahmen der Diagnostik am Pathologischen Institut der LMU. Dem Formalin fixierten Gewebe wird anschließend das Wasser mit einer aufsteigenden Alkoholreihe entzogen. Der Alkohol wird wiederum durch Xylol entfernt. Nun wird das Gewebe eingebettet, das heißt in einer passenden Form mit auf 60°C erhitztem flüssigen Paraffin überschichtet und zur Abkühlung gebracht.

Von den Paraffinblöcken werden Gewebeschnitte in einer Dicke von ca. 2-3 µm dicke geschnitten und auf geladene Objektträger aufgezogen und im Brutschrank getrocknet.

3.3 Immunhistochemie

Folgende Antikörper wurden an dem 177 Patienten umfassenden Kollektiv gefärbt: ERα, ERβ, VDR, PR, RXRα, THRa 1/2 und THRβ (siehe Abbildung 3.3).

Die Färbung des ERα und des PR fand im immunhistochemischen Labor des Pathologischen Instituts der Ludwig-Maximilians Universität München am Ventana-Vollautomaten statt.

Die anderen Reaktionen (ERβ, VDR, RXR, THRa 1/2, THRβ) wurden im Labor für Immunhistochemie der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe der Ludwig-Maximilians Universität München durchgeführt. Hierzu wurden die im Folgendem beschriebenen Färbeprotokolle verwendet.

Zunächst findet eine Vorbehandlung statt. Diese wird bei allen Protokollen nach dem gleichen Prinzip durchgeführt (siehe 3.3.1).

Es folgt die antikörperspezifische Aufarbeitung der Schnitte für jeden Antikörper (siehe 3.3.2 bis 3.3.6).

Abschließend werden die Schnitte gefärbt und eingedeckt. Auch dieser Schritt verläuft für alle Präparate einheitlich (siehe 3.3.7).

Die einheitlichen Schritte werden unter den Punkten 3.3.1 und 3.3.7 abgehandelt und unter den Punkten 3.3.2 bis 3.3.6 die antikörperspezifischen Schritte. Die Färbung von PR und ER α erfolgte durch einen Autostainer im pathologischen Institut der Ludwig-Maximilians-Universität München und wird unter 3.3.8 genauer beschrieben.

3.3.1 Einheitliche Vorbehandlung der Präparate

Die Schnitte werden zu Beginn der Immunfärbung für 20 Minuten in Xylol gestellt um das Paraffin zu lösen. Das Xylol wird mit 100 %igem Ethanol ausgewaschen. Zur Blockierung der endogenen Peroxidase werden die Schnitte in einer Mischung aus 30 %igem Wasserstoffperoxid (3ml) und Methanol (97 ml) für 20 Minuten aufbereitet. Über eine absteigende Alkoholreihe (2 x 100 %iges Ethanol, 70 %iges Ethanol, 50 %iges Ethanol) wird die Wasserstoffperoxid-Methanol-Mischung entfernt. Mit destilliertem Wasser wird wiederum das Ethanol entfernt.

Der nächste Schritt ist die Demaskierung der Antigenstruktur. Dies erfolgt durch die Hitzevorbehandlung im Schnellkochtopf. Es wird eine Natrium-Citratpufferlösung bestehend aus 900 ml destilliertem Wasser, 18 ml der Lösung A (21,01g 0,1M Citronensäure in einem Liter destillierten Wasser) und 82 ml der Lösung B (29,41 g 0,1M Na-Citrat gelöst in einem Liter destillierten Wasser) genutzt. Diese wird zum Sieden gebracht und die Schnitte für 5 Minuten erhitzt. Es werden die Aldehydvernetzungen gelöst die zuvor die Epitope maskiert haben. Diese werden nun auch durch die Antikörper erkannt. So werden die Proteinvernetzungen, die durch die Formalinfixation entstanden sind, wieder getrennt.

Der Kochtopf wird in einem Wasserbad abgekühlt. Danach werden die Schnitte mit destilliertem Wasser gesäubert und für 2x2 Minuten in PBS-Puffer gereinigt.

Es schließt sich die Blockierung der Präparate an. Dafür wird auf jeden Schnitt ein Blockierungsmittel aufgebracht. Beim Nachweis des ER β 1 wird hierfür das Blockierungsserum (Detektionssystem: Vectastain ABC Kit Mouse IgG, gelbe Flasche) für 20 Minuten aufgetragen und anschließend abgekippt. Bei den anderen Antikörpern (RXR, THR α 1/2, THR β , VDR) wird zur Blockierung Power Block (BioGenex) für 3 Minuten auf die Objektträger aufgetragen und ebenfalls danach abgekippt. Dadurch wird die elektrostatische Ladung im Gewebe gesättigt. Dies bewirkt, dass sich Immunglobuline durch hydrophobe Bindungen nicht unspezifisch an Membranen oder im Fettgewebe binden.

Es folgt der antikörperspezifische Teil der Färbung. Dieser wird in den folgenden Abschnitten beschrieben (Abschnitt 3.3.2, 3.3.3, 3.3.4, 3.3.5, 3.3.6).

3.3.2 Nachweis von ER β

Nach der Vorbehandlung wird der Primärantikörper (siehe Tabelle 3.3) für 16 Stunden bei 4°C aufgetragen. Danach werden die Schnitte für 2x2 Minuten in PBS-Puffer gewaschen. Für 30 Minuten wird der Sekundärantikörper (Vectastain ABC Kit Mouse IgG, daraus werden 3 Tropfen Horse-Normalserum + 1 Tropfen Anti-mouse-IgG + 10 ml steriles PBS-Puffer gemischt) aufgetragen. Es ist ein biotinylierter Link-Antikörper (sogenannte Brückenantikörper). Der Sekundärantikörper ist dabei gegen das Tier gerichtet aus dem der Primärantikörper stammt. Er kann das sogenannte Fc-Fragment (kristallisierbares Fragment) des Primärantikörpers erkennen.

Überschüssiges Material wird durch Waschen der Schnitte in 2x2 Minuten PBS-Puffer entfernt.

Nun wird für weitere 30 Minuten der Avidin-Biotin-Komplex (AB-Komplex, bestehend aus 4 Tropfen Reagenz A + 4 Tropfen Reagenz B + 10 ml steriles PBS aus dem Vectastain ABC Kit Mouse IgG) aufgetragen. Das Prinzip dabei ist, dass Avidin eine hohe Affinität zu Biotin (sogenannte

Vitamin H oder Vitamin B7) hat und sich daran bindet. Es ist gentechnisch synthetisiert und wird durch das Bakterium *Streptomyces avidinii* erzeugt. Es besitzt 4 Bindungsstellen für Biotin, 3 dieser Bindungen können durch je ein Molekül Biotin besetzt werden. Zusätzlich ist an jedem Biotin ein Peroxidase-Enzym gekoppelt. Über die vierte Bindungsstelle bindet der Avidin-Biotin-Komplex an den biotinylierten Sekundärantikörper (Brückenantikörper). So wird über das Biotin die Verbindung zwischen Sekundärantikörper und Avidin-Biotin-Komplex hergestellt.

Das weitere Vorgehen ist unter 3.3.7 beschrieben.

3.3.3 Nachweis von RXRa

Die Anwendung des Antikörpers (siehe Tabelle 3.3) findet für 16 Stunden bei 4°C statt. Überschüssiges Material wird durch Waschen der Schnitte für 2x2 Minuten in sterilem PBS-Puffer entfernt. Es folgt eine 30 minütige Behandlung der Schnitte mit dem Sekundärantikörper (Vectastain ABC Kit Mouse IgG, daraus werden 3 Tropfen Horse-Normalserum + 1 Tropfen Anti-mouse-IgG + 10 ml steriles PBS-Puffer gemischt). Dieser Sekundärantikörper (sogenannte Brückenantikörper) bindet an das Fc-Fragment des Primärantikörpers. Nicht gebundenes Material wird in einem 2x2 minütigen Waschvorgang in PBS-Puffer entfernt.

Der Avidin-Biotin-Komplex (AB-Komplex, bestehend aus 4 Tropfen Reagenz A + 4 Tropfen Reagenz B + 10 ml steriler PBS-Puffer aus dem Vectastain ABC Kit Mouse IgG) wird für 30 Minuten aufgetragen.

Es folgt die weitere einheitliche Vorgehensweise wie unter 3.3.7 beschrieben.

3.3.4 Nachweis von THRα 1/2

Dieser Primärantikörper (siehe Tabelle 3.3) wird bei Raumtemperatur für eine Stunde auf die Objektträger aufgebracht.

Für 2x2 Minuten werden die Objektträger in sterilem PBS-Puffer gewaschen. Nun wird 30 Minuten lang der Sekundärantikörper (Vectastain ABC Kit Rabbit IgG, daraus werden 3 Tropfen Goat-Normalserum + 1

Tropfen Anti-rabbit-IgG + 10 ml steriler PBS-Puffer gemischt) aufgetragen. Es handelt sich dabei um einen biotinylierten Link-Antikörper (sogenannte Brückenantikörper). Dieser bindet an das Fc-Fragment des Primärantikörpers.

Zum Reinigen von überschüssigem Material werden die Präparate 2x2 Minuten in sterilem PBS-Puffer gesäubert.

Anschließend wird der Avidin-Biotin-Komplex (AB-Komplex, bestehend aus 4 Tropfen Reagenz A + 4 Tropfen Reagenz B + 10 ml steriler PBS-Puffer aus dem Vectastain ABC Kit Rabbit IgG) für 30 Minuten aufgetragen.

Es folgt die weitere einheitliche Vorgehensweise wie unter 3.3.7 beschrieben.

3.3.5 Nachweis von THR β

Der Primärantikörper (siehe Tabelle 3.3) wird eine Stunde bei Raumtemperatur aufgetragen. Zum Nachweis wird die EPOS-Methode (Enhanced Polymer One Step Staining) angewandt. An das Fc-Fragment der Primärantikörper bindet ein Dextran-Polymer. An dieses Polymer wiederum binden eine große Anzahl von HRP-Enzymen (Horseradish peroxidase).

Bei Raumtemperatur wird der Antikörper für eine Stunde auf die Schnitte aufgetragen. Gewaschen werden sie anschließend für 2x2 Minuten in sterilem PBS-Puffer.

Für 20 Minuten wird ein Post Block (Reagent 2 vom ZytoChem Plus HRP Polymer System) aufgebracht. Die Objektträger werden erneut 2x2 Minuten in PBS-Puffer gewaschen.

Die Schnitte werden nun für 30 Minuten mit dem HRP-Polymer behandelt. Hiernach schließt sich der einheitliche Teil an, in welchem die Färbung und die Eindeckung der Präparate stattfindet (siehe 3.4.7).

3.3.6 Nachweis von VDR

Für eine Stunde wird der Primärantikörper (siehe Tabelle 3.3) bei Raumtemperatur aufgetragen. Die Schnitte werden 2x2 Minuten in

sterilem PBS-Puffer gewaschen. Der Sekundärantikörper (Vectastain ABC Kit Mouse IgG, davon werden 4 Tropfen Mouse-Normalserum + 1 Tropfen Anti-mouse-IgG + 10 ml steriler PBS-Puffer gemischt) wird für 30 Minuten auf die Schnitte pipettiert. Dabei bindet er an das Fc-Fragment des Primärantikörpers. An diesem sogenannten Brückenantikörper sind Biotin-Enzyme gekoppelt. Die Schnitte werden in sterilem PBS-Puffer für 2x2 Minuten gesäubert. Im folgenden Schritt wird der Avidin-Biotin-Komplex (4 Tropfen Reagenz A + 4 Tropfen Reagenz B + 10 ml steriles PBS aus dem Vectastain ABC Kit Mouse IgG) für 30 Minuten auf die Präparate aufgebracht.

Anschließend findet die Färbung der Schnitte wie unter 3.3.7 beschrieben statt.

3.3.7 Einheitliche Färbung nach antikörperspezifischer Färbung

Nach dem antikörperspezifischen Abschnitt des Färbeprotokolls werden die Schnitte nun einheitlich gefärbt und eingedeckt. Zunächst werden die Präparate dafür 2x2 Minuten in sterilem PBS-Puffer gewaschen. Es schließt sich die Substratfärbung an. Dafür wird eine Minute lang Liquid DAB+ Substrate (1ml Substratpuffer + 1 Tropfen DAB-Chromogen) auf die Schnitte aufgetragen. Dies bewirkt eine braune Färbung was durch die Reaktion der Peroxidase (an Biotin gekoppelt) mit Wasserstoffperoxid (H_2O_2) als Katalysator und DAB (3,3 Diaminobenzidin) hervorgerufen wird. Es handelt sich bei Liquid DAB+ Substrate um einen kanzerogenen Stoff. Der positive Effekt liegt jedoch darin, dass er in organischen Lösungsmitteln nicht löslich ist. Um die Färbereaktion zu stoppen werden die Schnitte für 2x2 Minuten in destilliertem Wasser gewaschen. Die anschließende Gegenfärbung dauert eine Minute und wird mit saurem Hämaun nach Mayer durchgeführt. Die negativ geladenen Kerne werden dabei stark gefärbt. Dies liegt daran, dass es sich bei saurem Hämaun um einen basischen Farbstofflack handelt, der sich in einer sauren Lösung befindet (pH-Wert 4,5). Unter fließendem Leitungswasser werden die

Schnitte gewaschen und gleichzeitig in einem alkalischen Milieu für 3 Minuten gebläut.

In einer aufsteigenden Alkoholreihe (70 %iger Alkohol, 96 %iger Alkohol, 2x100 %iger Alkohol) werden die Schnitte entwässert. Durch anschließendes Schwenken in Xylol wird der Alkohol entfernt.

Zuletzt werden die Schnitte haltbar gemacht. Dafür werden die Präparate mit Hilfe von Eukitt mit einem Deckglas eingedeckt.

3.3.8 Nachweis von ERα und PR

Die Färbung dieser beiden Rezeptoren erfolgt maschinell mit Hilfe des Autostainers Ventana BenchMark gemäß des vorgegeben Standardprotokolls für den jeweiligen Rezeptor im immunhistochemischen Labor des Pathologischen Instituts der LMU. Hierfür werden fertige Vollkits (ready-to-use) genutzt.

3.4 Auswertung

Die immunhistochemisch gefärbten Schnitte werden am Mikroskop ausgewertet. Zur Beurteilung wird der immunreaktive Score (IRS) nach Remmele und Stegner genutzt (Tabelle 3.4).

Dabei erfolgt die Beurteilung der Reaktion zum einen nach Färbeintensität (0 Punkte bei keiner Färbung, 1 Punkt bei schwacher Intensität, 2 Punkte bei mittlerer Intensität, 3 Punkte bei starker Intensität) und zum anderen nach der Anzahl der angefärbten Zellen (0 Punkte wenn keine Zellen gefärbt sind, 1 Punkt bei einer Färbung von <10 % der Zellen, 2 Punkte bei einer Färbung von 11-50 %, 3 Punkte bei einer Färbung von 51-80 % der Zellen und 4 Punkte bei einer Färbung bei 81-100 % der Zellen). Aus den beiden Werten wird das Produkt gebildet (mögliche Werte von 0-12). Ausgewertet werden sowohl die Karzinomzellen als auch das gesunde Gewebe und die bindegewebigen Stromazellen.

Die statistischen Berechnungen werden mit den Programmen SPSS (Statistical Package for Social Sciences 21) und Microsoft Excel (Version 2011) durchgeführt. Mithilfe der Kaplan-Meier Überlebenskurven wurde

analysiert, ob das Gesamtüberleben und die Rezeptorexpression miteinander korrelieren. Die Überlebenskurven wurden mittels COX-Regression überprüft.

P-Werte die unter 0,05 liegen, werden als statistisch signifikant gewertet. Werte unter 0,01 gelten als statistisch hochsignifikant.

| Punkte | Färbeintensität | Prozentsatz positiver Zellen (%) |
|--------|-----------------|----------------------------------|
| 0 | keine Färbung | 0 |
| 1 | schwach | 1-10 |
| 2 | mittel | 11-50 |
| 3 | stark | 51-80 |
| 4 | - | 81-100 |

Tabelle 3.4. Immunreaktiver Score (IRS) nach Remmele und Stegner

4 Ergebnisse

4.1 ER β

Insgesamt sind 175 der 177 Fälle (98,9 %) auswertbar. Im Zytoplasma wird der Rezeptor bei 86 (47,8 %) Karzinomen exprimiert. Nukleär findet er sich insgesamt bei 141 (79,7 %) der Fälle mit folgender Verteilung: Bei 34 Patienten (19,2 %) kommt es zu keiner Expression (IRS= 0) von ER β . Der Wert 1 zeigt sich bei 30 Patienten (17,0 %). Bei 42 Patienten (23,7 %) liegt ein IRS von 2 vor. Der IRS 3 ergibt sich bei 21 Patienten (11,8 %). 16 Patienten (9,1 %) haben einen IRS von 4, 29 Patienten (16,4 %) einen Score von 6 und 3 Patienten (1,7 %) ein Wert von 9 (siehe Tabelle 4.1, Abbildung 4.4, 4.5). Der IRS-Mittelwert liegt bei 2,52.

| IRS (ER β) | Häufigkeit | Prozent (%) |
|-------------------|------------|-------------|
| 0 | 34 | 19,2 |
| 1 | 30 | 17,0 |
| 2 | 42 | 23,7 |
| 3 | 21 | 11,8 |
| 4 | 16 | 9,1 |
| 6 | 29 | 16,4 |
| 9 | 3 | 1,7 |
| fehlend | 2 | 1,1 |
| Gesamt | 177 | 100,0 |

Tabelle 4.1: IRS beim ER β

Zwischen der Expression des ER β und dem Gleason-Score zeigt sich keine Korrelation. ($p=0,052$, siehe Abbildung 4.1).

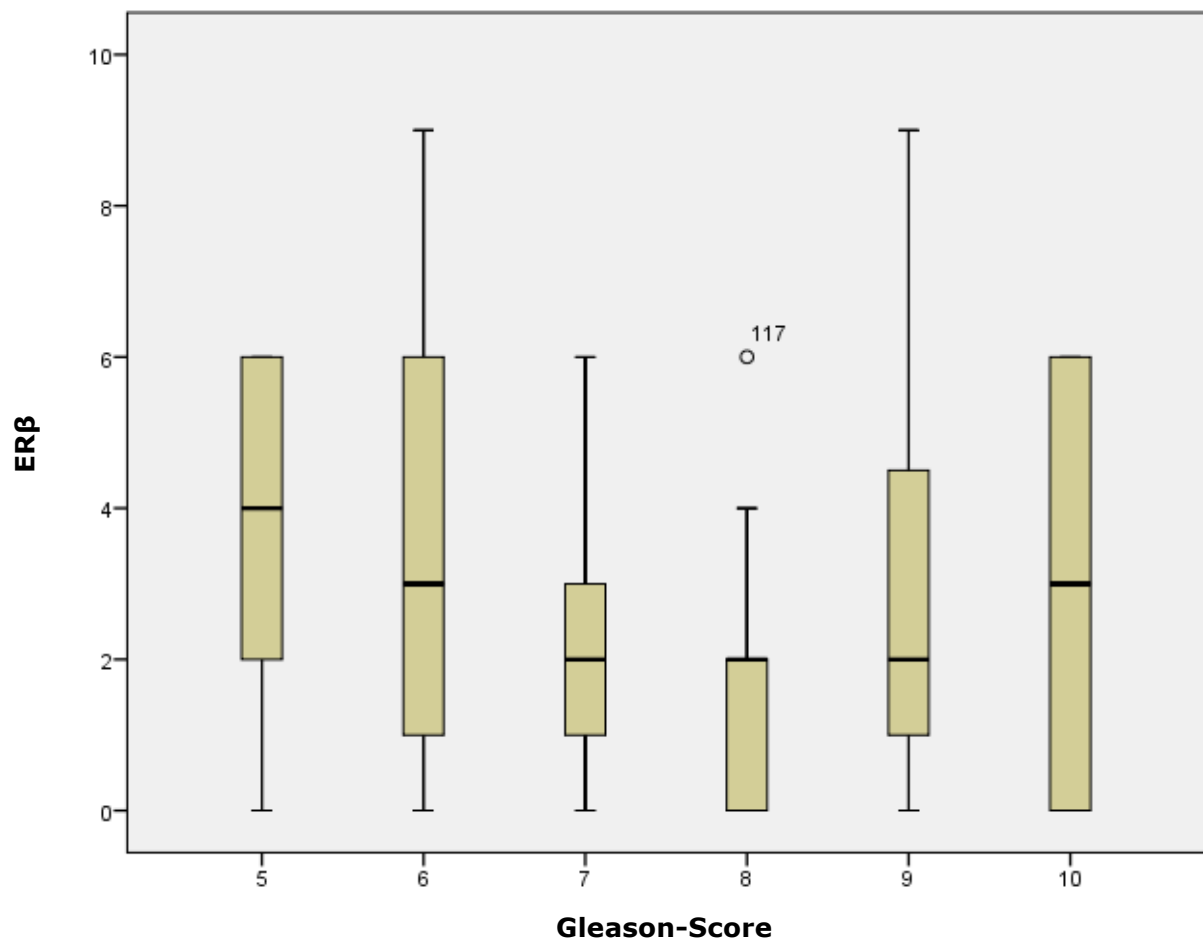


Abbildung 4.1: ERβ (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score

Nach Einteilung des Gleason-Scores in 3 Malignitätsgruppen (Gleason ≤ 6 , 7, ≥ 8) wie in 3.1.1.3 beschrieben, zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen diesen 3 Gruppen und der Expression von ERβ ($p=0.013$) wobei ein höherer Malignitätsgrad mit einem zunehmenden Expressionsverlust einhergeht (Abbildung 4.2).

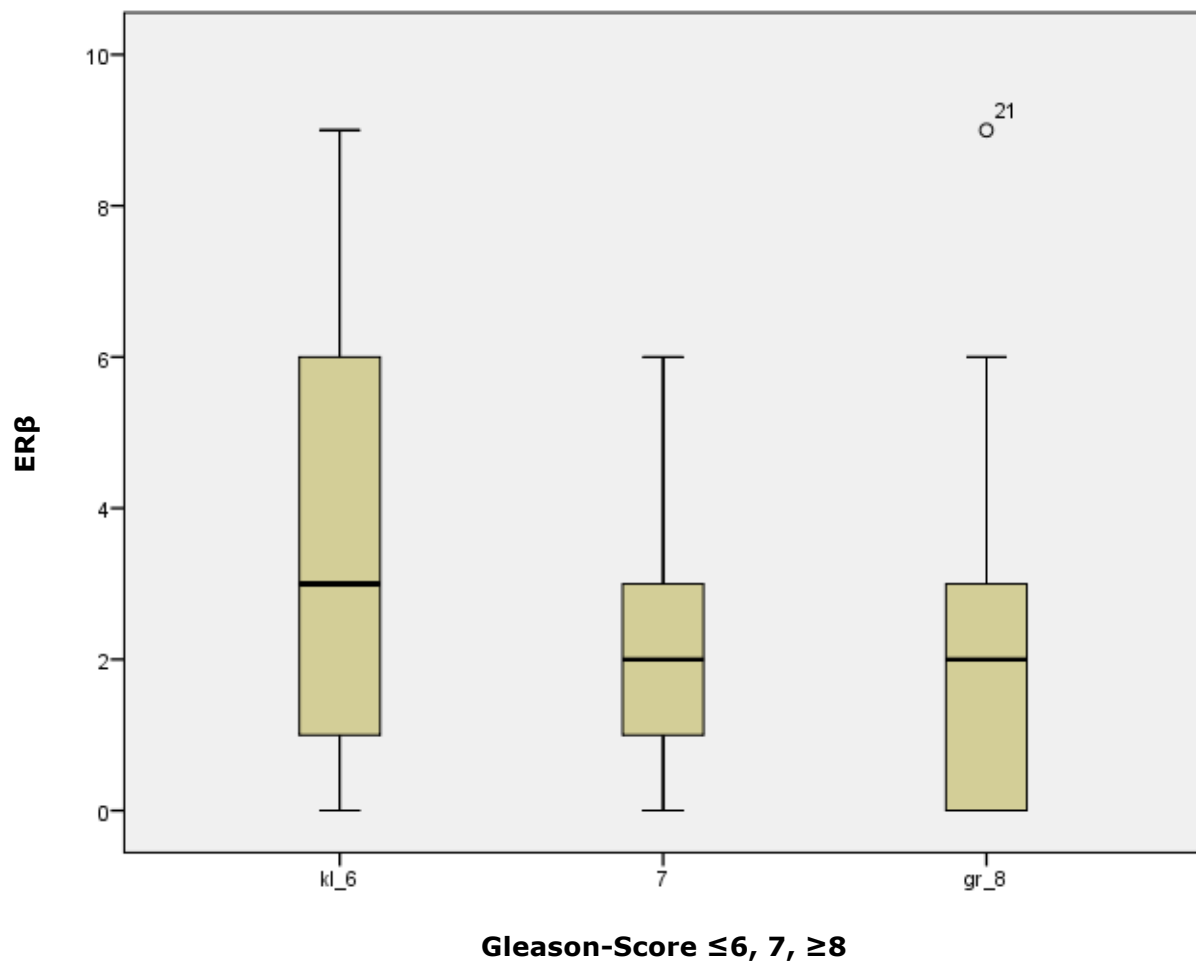


Abbildung 4.2: ERβ Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score (≤ 6 , 7, ≥ 8)

Beim Patientenkollektiv zeigt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Expression des ERβ und dem Grading. Der p-Wert liegt bei 0,006 (Abbildung 4.3).

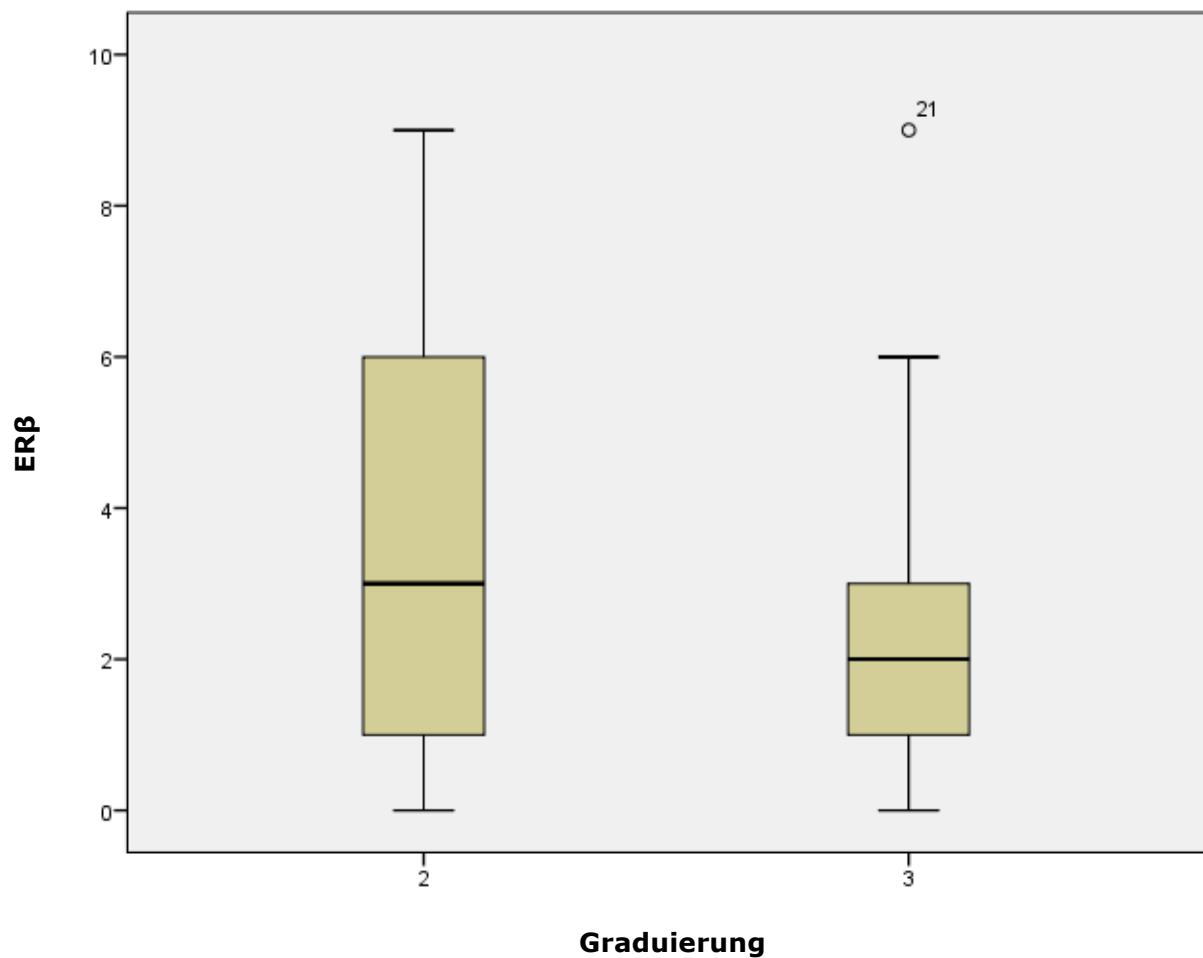


Abbildung 4.3: ERβ (anhand des IRS) in Relation zur Graduierung

Für das Gesamtüberleben kann für ERβ keine statistische Signifikanz beobachtet werden ($p=0.462$).

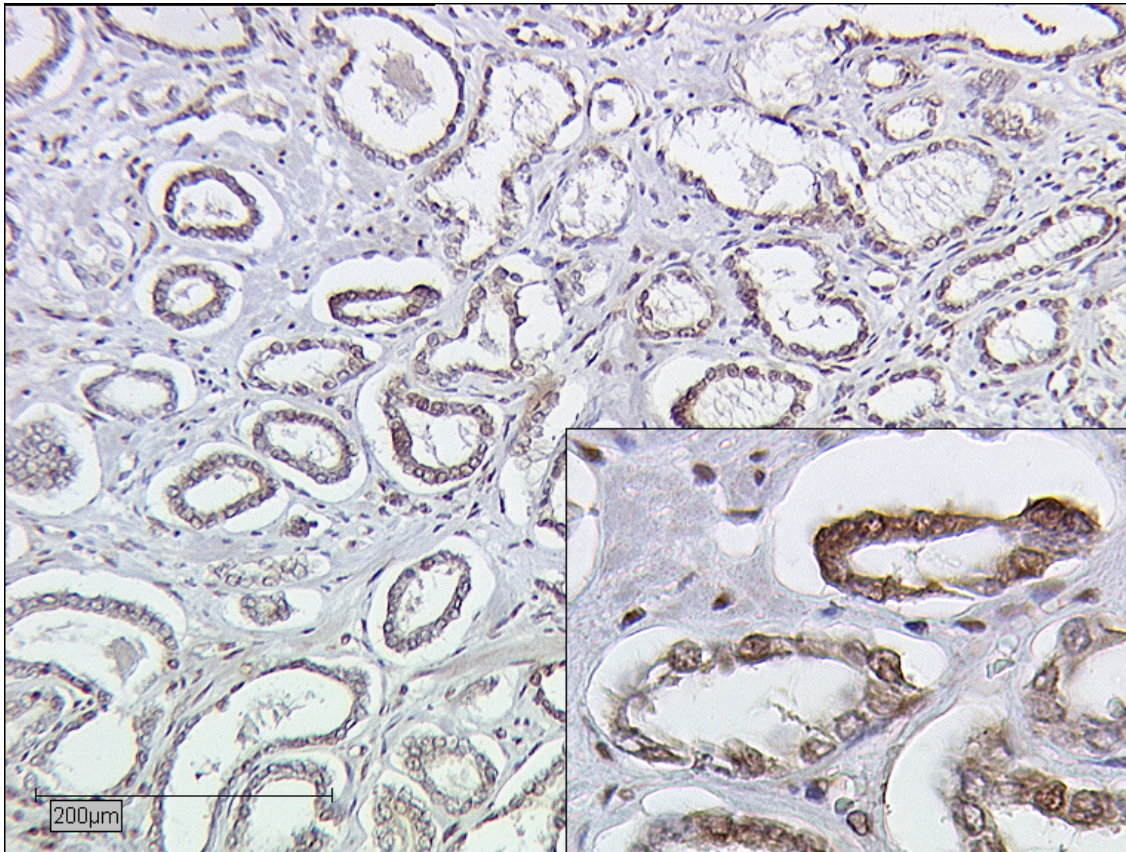


Abbildung 4.4: ER β Expression

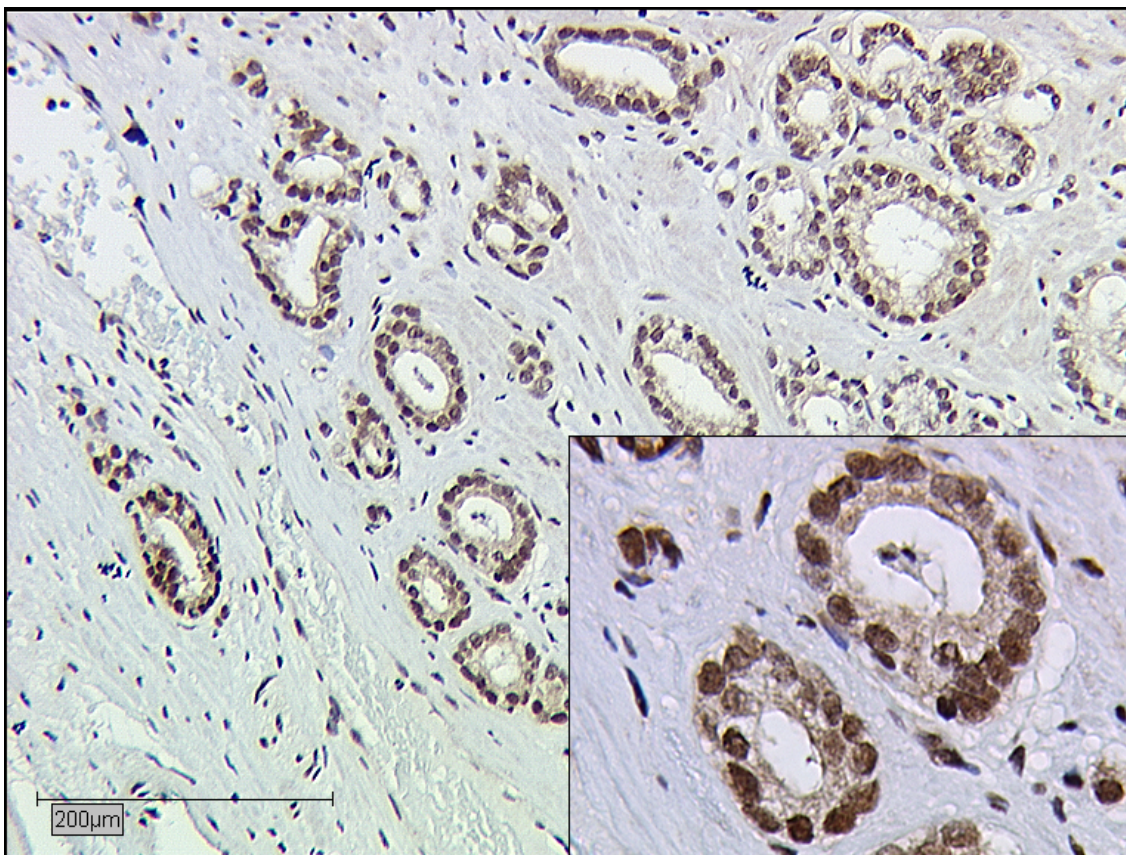


Abbildung 4.5: ER β Expression

4.2 RXR α

177 Fälle (100 %) sind auswertbar. Zytoplasmatisch wird der Rezeptor bei 47 Fällen (26,1 %) exprimiert. Im Zellkern findet bei 97 Patienten (54,8 %) eine Expression mit folgender Verteilung statt: Bei 79 Patienten (44,6 %) kann keine Expression des Rezeptors nachgewiesen werden. Der IRS von 1 wird bei 18 Patienten (10,2 %) erhoben, der IRS 2 bei 33 Patienten (18,6 %), der IRS 3 bei 18 Patienten (10,2 %), der IRS von 4 bei 14 Patienten (7,9 %), der IRS 6 bei 8 Patienten (4,5 %), der IRS 8 bei 6 Patienten (3,4%) und der IRS 9 bei einem Patienten (0,6 %) (siehe Tabelle 4.2). Der Mittelwert des IRS liegt bei 1,70.

| IRS (RXR α) | Häufigkeit | Prozent (%) |
|---------------------|------------|-------------|
| 0 | 79 | 44,6 |
| 1 | 18 | 10,2 |
| 2 | 33 | 18,6 |
| 3 | 18 | 10,2 |
| 4 | 14 | 7,9 |
| 6 | 8 | 4,5 |
| 8 | 6 | 3,4 |
| 9 | 1 | 0,6 |
| Gesamt | 177 | 100,0 |

Tabelle 4.2: IRS RXR α

Die Korrelation zwischen Gleason-Score und der Expression von RXR α ergibt eine hohe statistische Signifikanz. (p-Wert=0,000; siehe Abbildung 4.6).

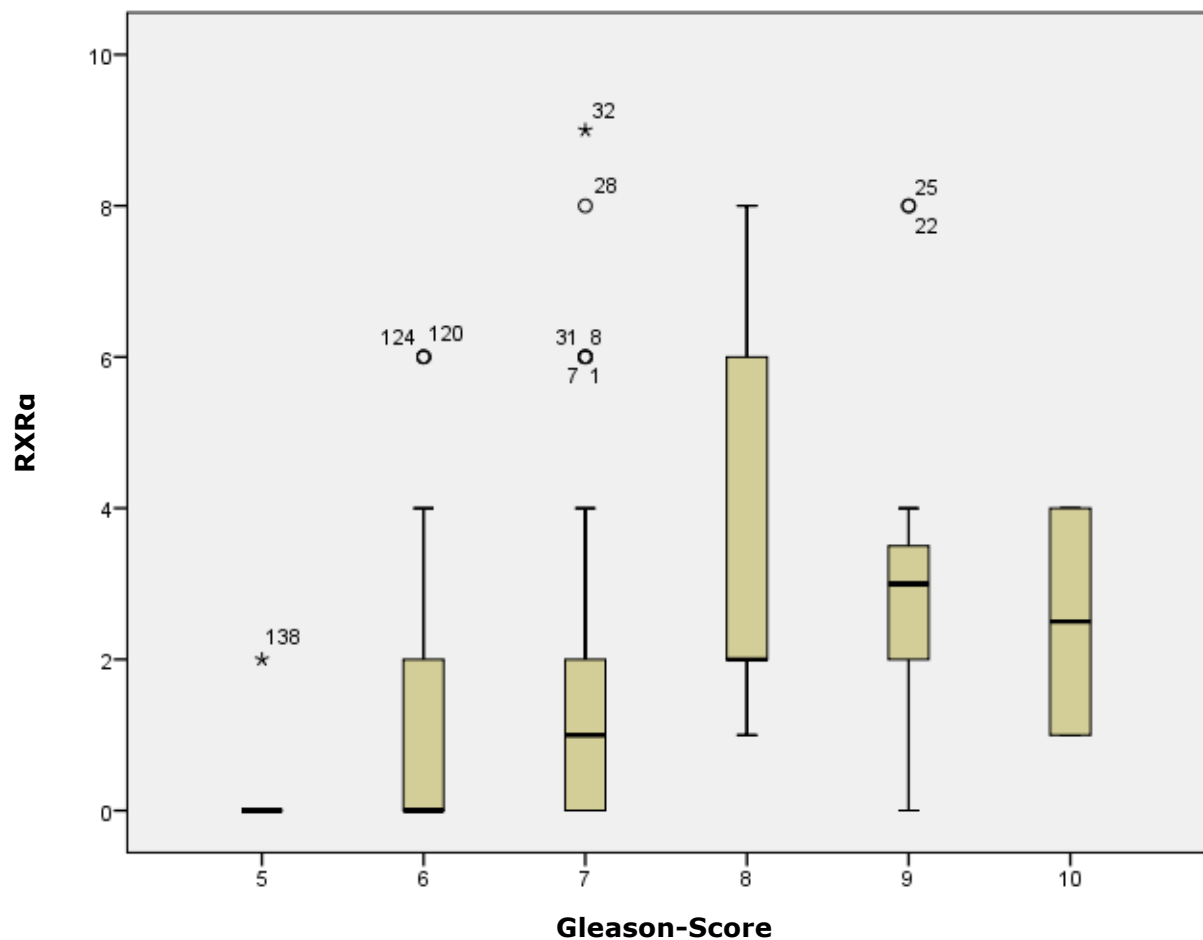


Abbildung 4.6: RXRa Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score

Auch die Auswertung nach der Unterteilung des Gleason-Scores in die 3 Gruppen (kleiner gleich 6, 7 und größer gleich 8) ergibt eine hohe signifikante Korrelation zur RXRa-Expression ($p=0,000$; siehe Abbildung 4.7).

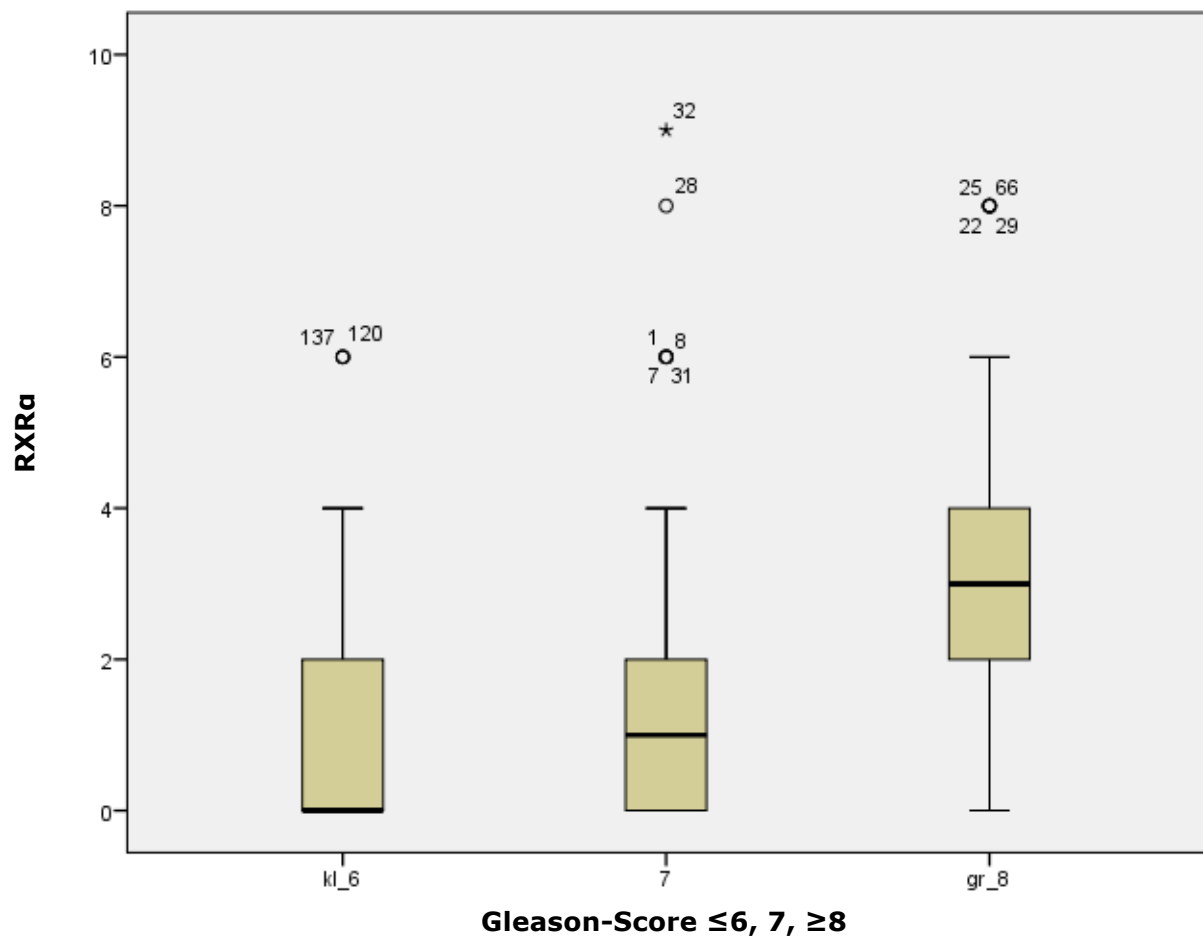


Abbildung 4.7: RXRα Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score (≤ 6 , 7, ≥ 8)

Ebenso korreliert die Expression des RXRα mit der Tumorgraduierung (p-Wert 0,002; siehe Abbildung 4.8).

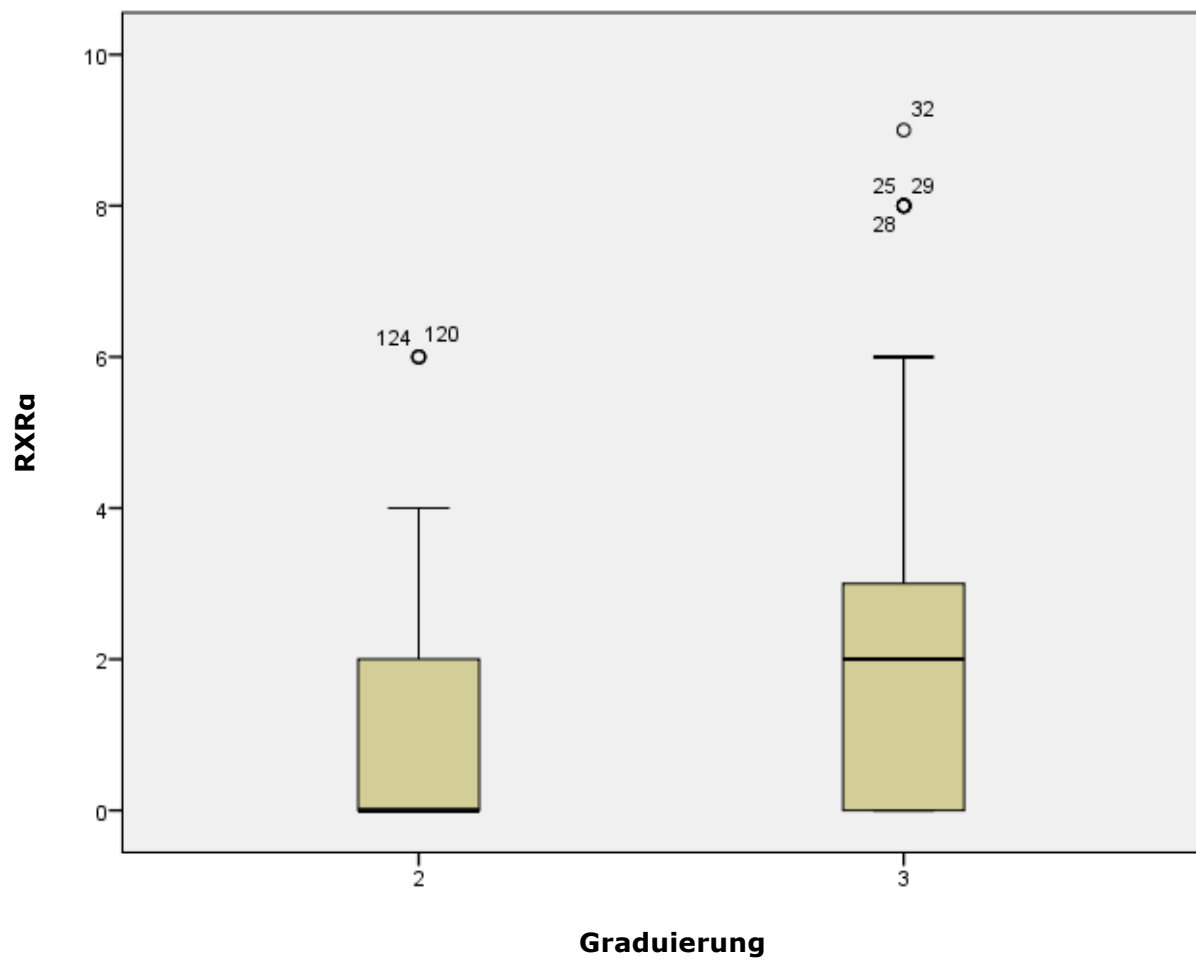


Abbildung 4.8: RXRa Expression (anhand des IRS) in Relation zur Graduierung

Für RXRa findet sich hinsichtlich des Gesamtüberlebens keine Korrelation ($p=0,149$).

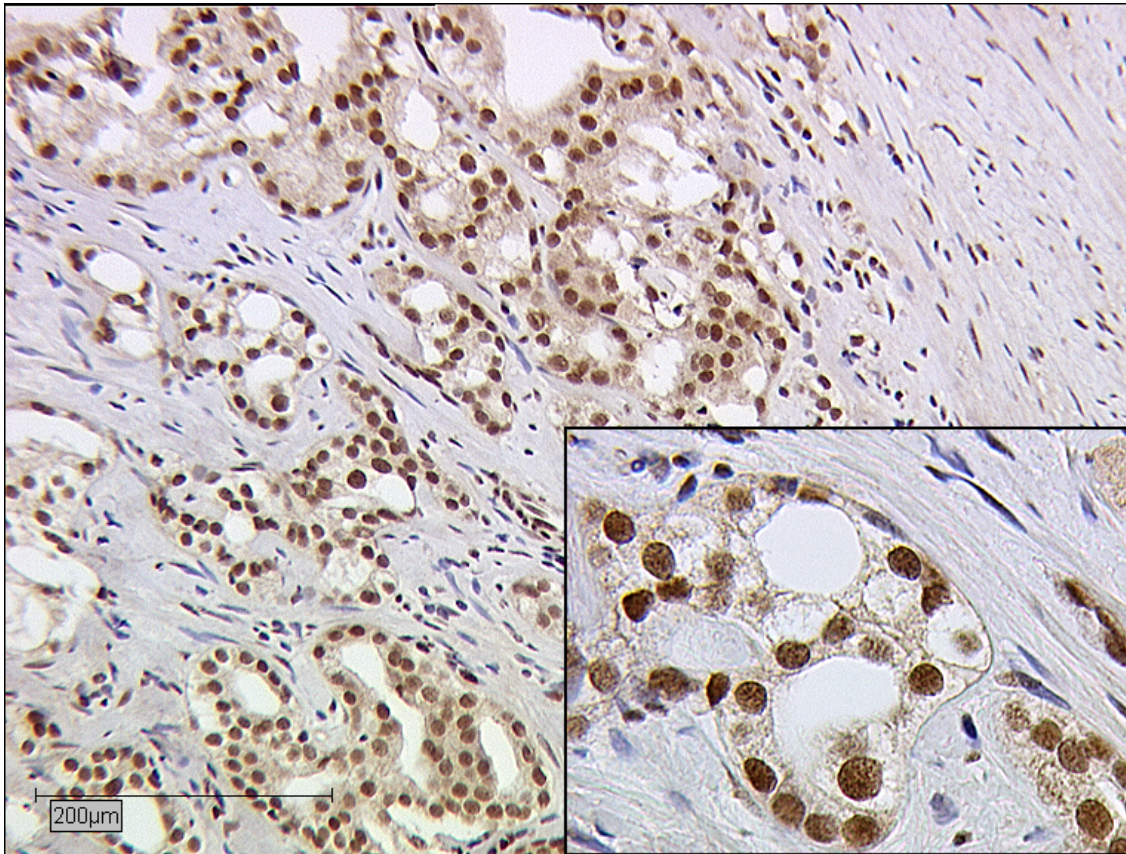


Abbildung 4.9: RXR α Expression

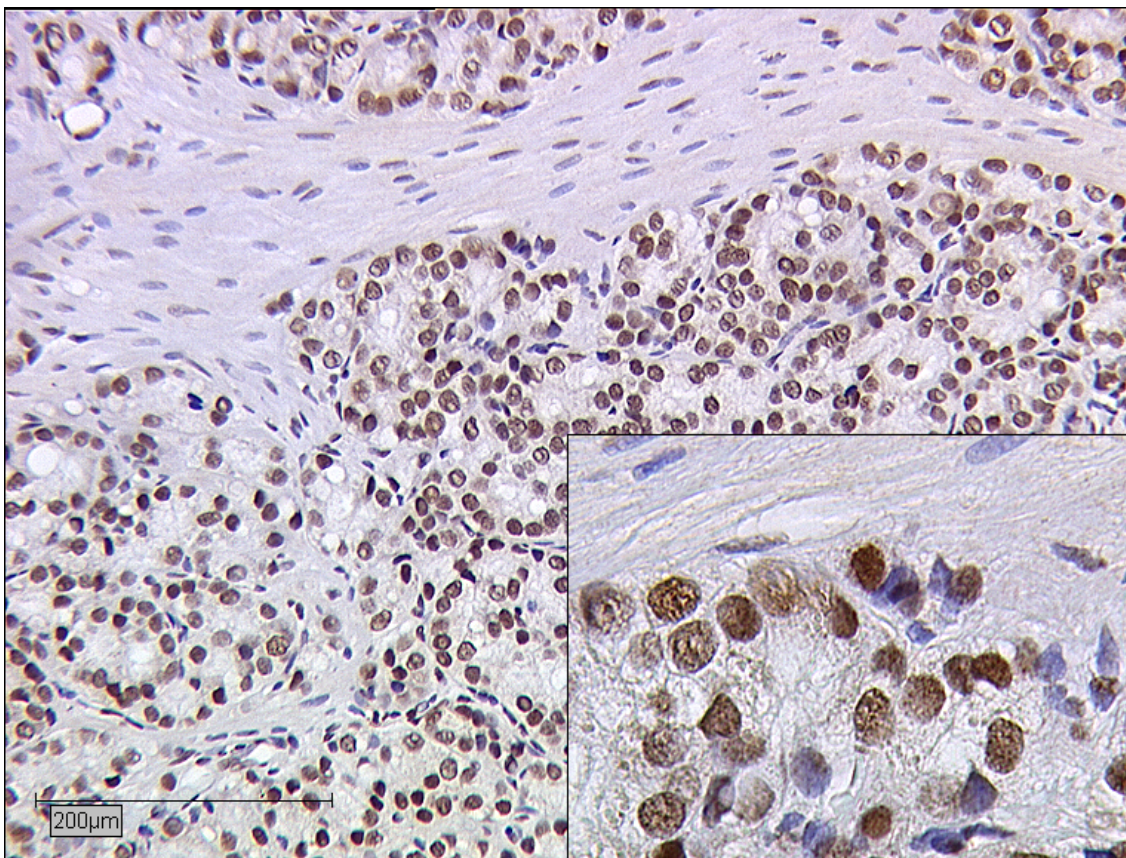


Abbildung 4.10: RXR α Expression

4.3 THRa 1/2

177 Schnitte (100 %) können ausgewertet werden. Bei 121 Fällen (68,3%) wird der Rezeptor im Zellkern nachgewiesen. Die größte Gruppe, 56 Patienten (31,7 %), zeigt keine Expression vom THRa 1/2, 39 Patienten (22,0 %) haben einen IRS von 1, weitere 38 Patienten (21,5 %) weisen einen Wert von 2 und 22 Patienten (12,4 %) einen Wert von 3 auf. Die weitere Verteilung stellt sich folgendermaßen dar: In 11 Fällen (6,2 %) zeigt sich der Wert 4, in 8 Fällen (4,5 %) der Wert 6 und bei den übrigen 3 Patienten (1,7 %) ein IRS von 8 (siehe Tabelle 4.3). Im Zytoplasma wird THRa 1/2 bei insgesamt 61 (33,9%) Patienten exprimiert. Der IRS-Mittelwert liegt bei 1,69.

| IRS (THRa 1/2) | Häufigkeit | Prozent (%) |
|----------------|------------|-------------|
| 0 | 56 | 31,7 |
| 1 | 39 | 22,0 |
| 2 | 38 | 21,5 |
| 3 | 22 | 12,4 |
| 4 | 11 | 6,2 |
| 6 | 8 | 4,5 |
| 8 | 3 | 1,7 |
| Gesamt | 177 | 100,0 |

Tabelle 4.3: IRS: THRa 1/2

Die Korrelation von Gleason-Score und Expression von THRa 1/2 zeigt keine statistische Signifikanz ($p=0,846$).

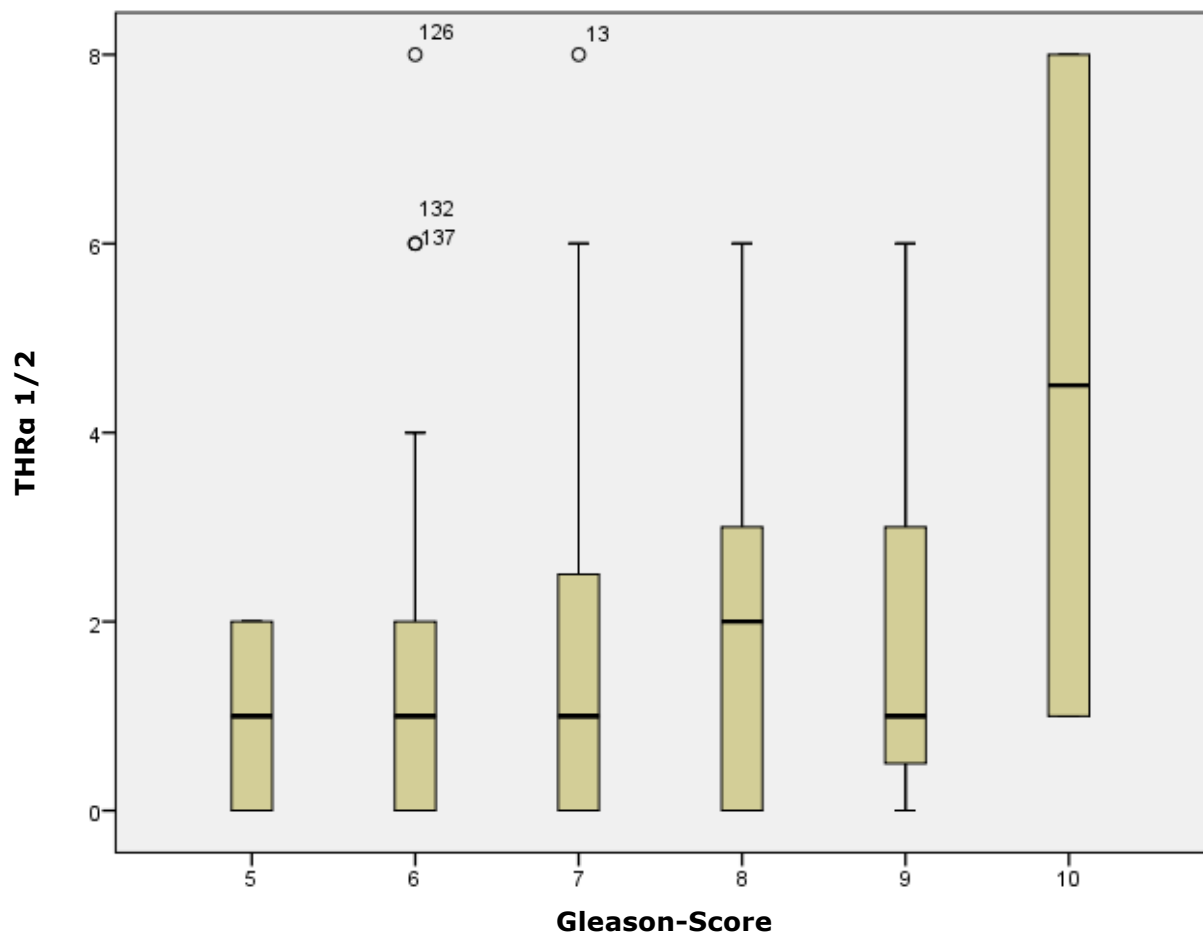


Abbildung 4.11: THRα 1/2 Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score

Ebenso besteht keine statistische Signifikanz ($p=0,722$) zwischen der Expression von THRα 1/2 und dem in 3 Gruppen zusammengefassten Gleason-Score (≤ 6 , 7, ≥ 8) (siehe Abbildung 4.12).

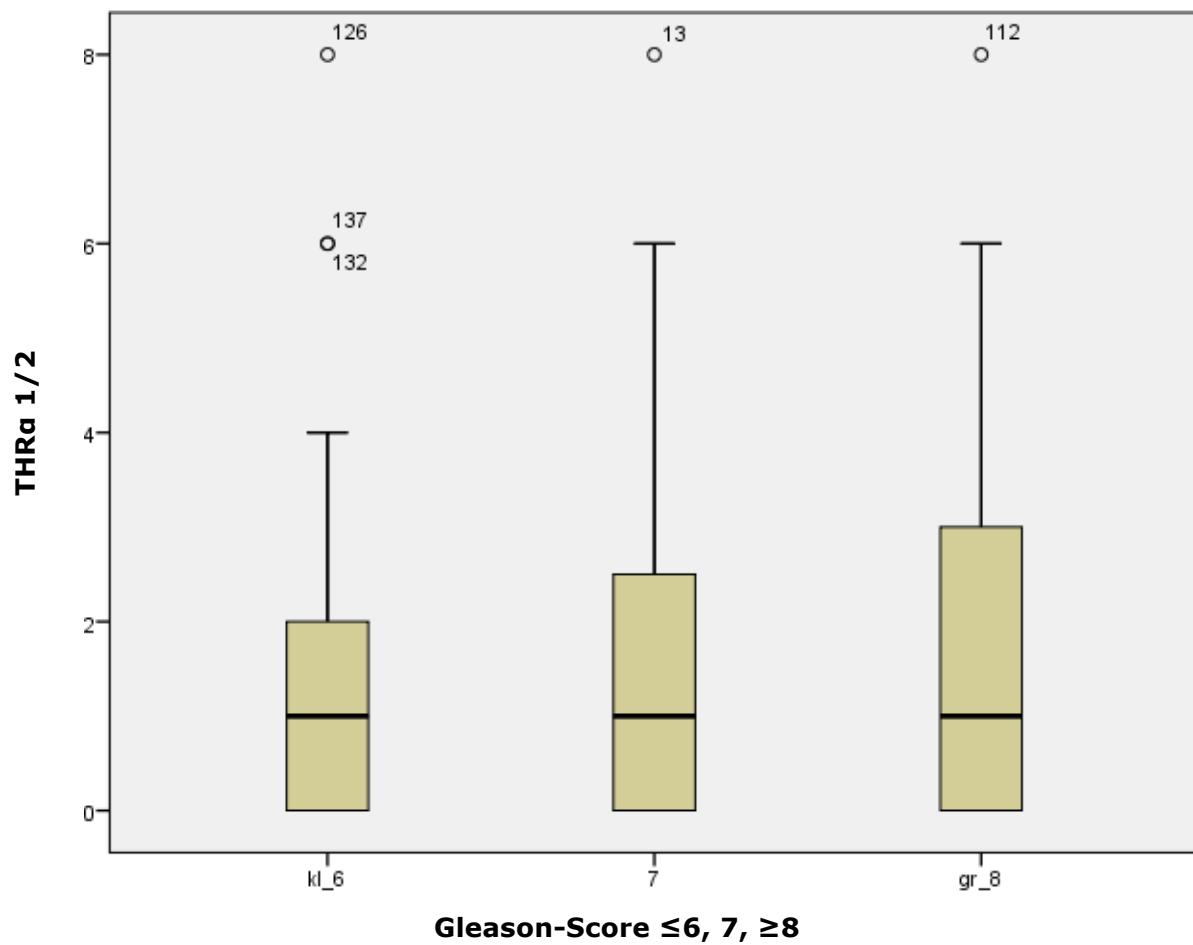


Abbildung 4.12: THRa 1/2 Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score (≤ 6 , 7, ≥ 8)

Auch die Korrelation der THRa 1/2 und der Graduierung ergibt keine statistische Signifikanz ($p=0,610$) (siehe Abbildung 4.13).

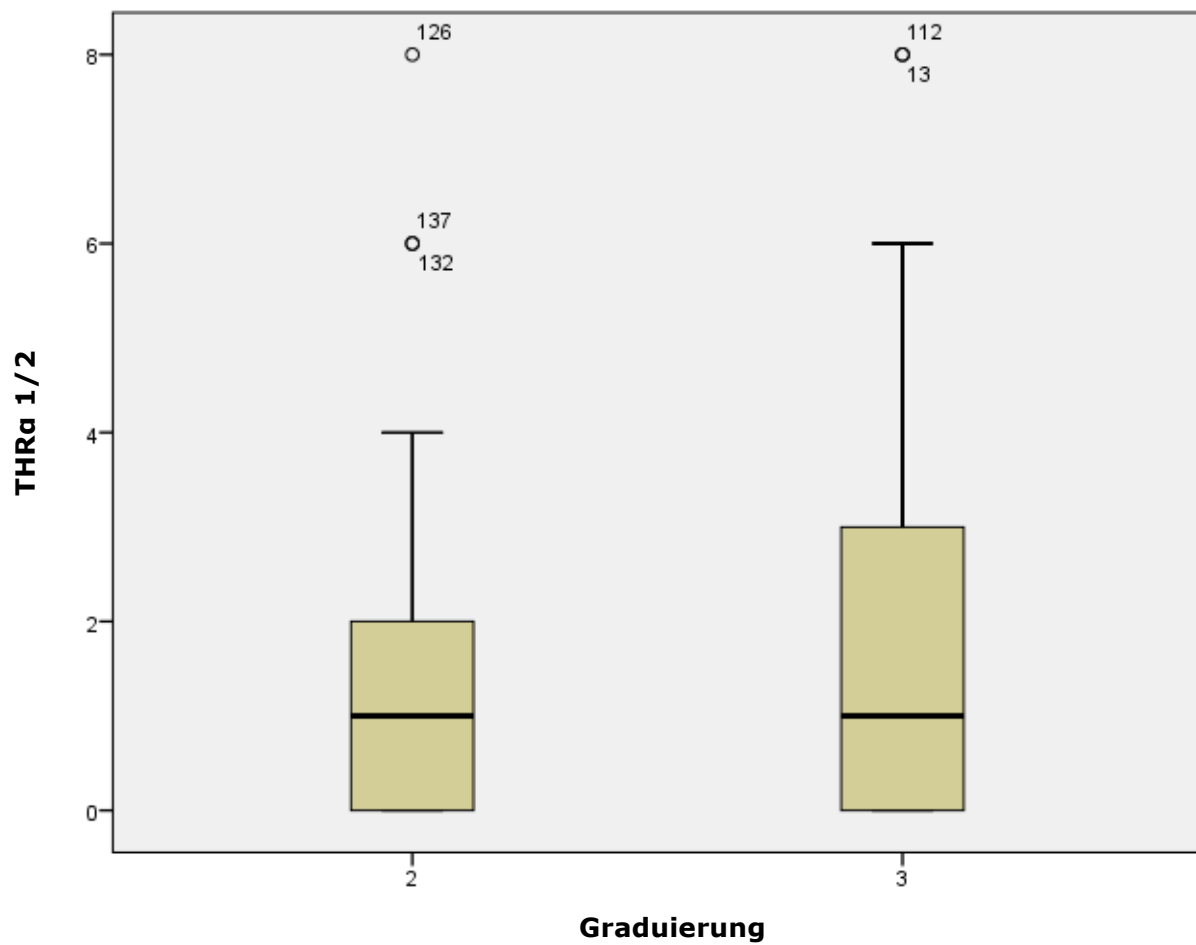


Abbildung 4.13: THRa 1/2 Expression (anhand des IRS) in Relation zur Graduierung

Für das Gesamtüberleben zeigt sich in Bezug auf THRa 1/2 keine statistisch signifikante Korrelation ($p=0,475$).

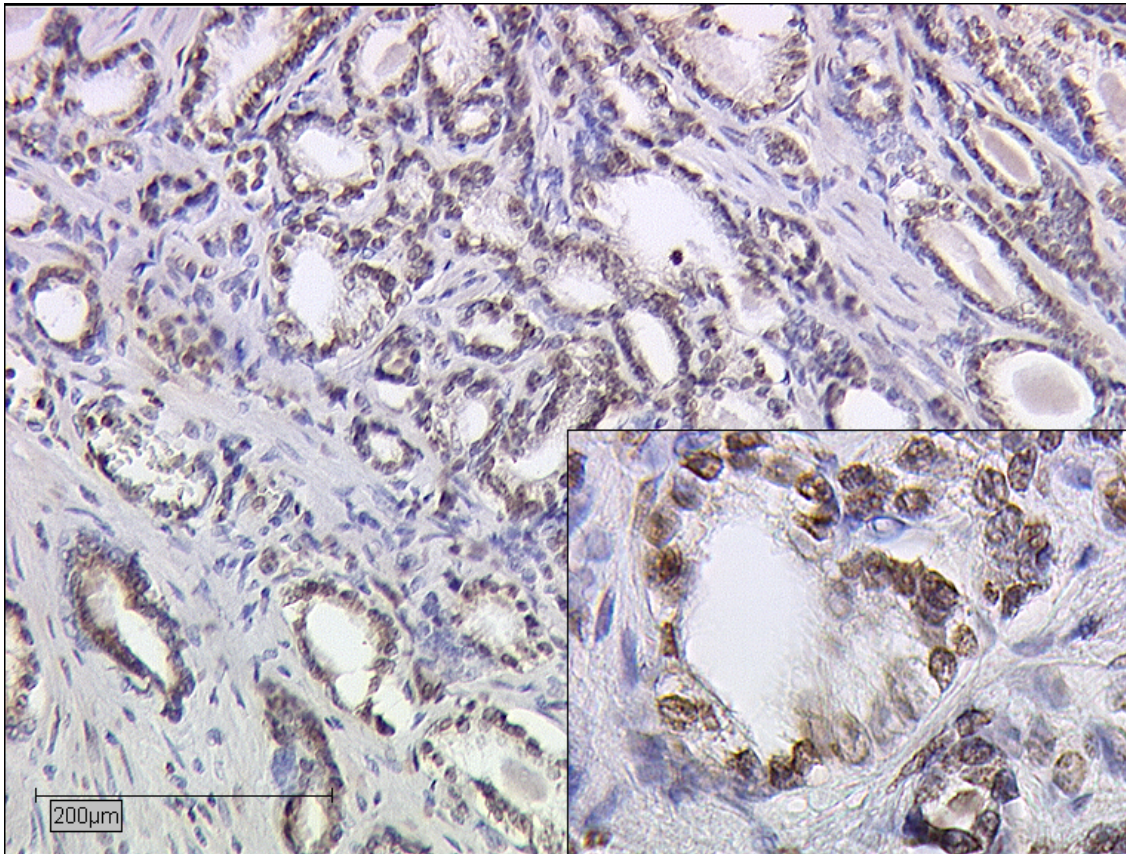


Abbildung 4.14: THRA 1/2 Expression

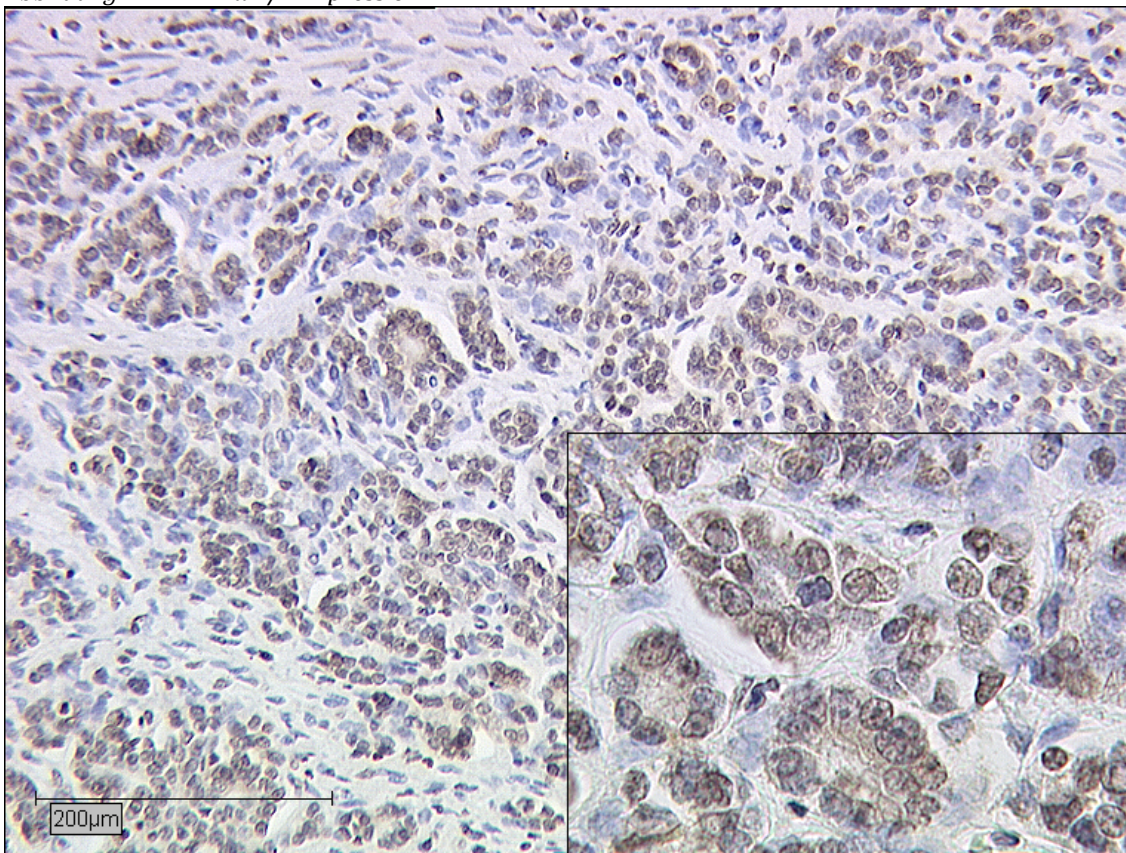


Abbildung 4.15: THRA 1/2 Expression

4.4 THR β

Alle 177 Fälle (100 %) können ausgewertet werden wobei sich bei 83 Fällen (46,9 %) eine Expression im Zellkern zeigt. Dabei ergeben sich die folgenden Ergebnisse: Bei 29 Patienten (16,4 %) lässt sich ein IRS von 1 bestimmen, bei 33 Patienten (18,6 %) ein Score von 2 und bei 10 Patienten (5,7 %) ein Wert von 3. Jeweils 5 Patienten (2,8 %) weisen einen IRS von 4 bzw. 6 auf. Bei einem Patienten (0,6 %) wird ein IRS von 8 erhoben (siehe Tabelle 4.4). Im Zytoplasma wird der Rezeptor bei 8 Fällen (4,4%) exprimiert. Der IRS-Mittelwert liegt bei 1,03.

| IRS (THR β) | Häufigkeit | Prozent (%) |
|--------------------|------------|-------------|
| 0 | 94 | 53,1 |
| 1 | 29 | 16,4 |
| 2 | 33 | 18,6 |
| 3 | 10 | 5,7 |
| 4 | 5 | 2,8 |
| 6 | 5 | 2,8 |
| 8 | 1 | 0,6 |
| Gesamt | 177 | 100,0 |

Tabelle 4.4: IRS: THR β

Die Auswertung der Korrelation zwischen der Expression des THR β und dem Gleason-Score ergibt ein signifikantes Ergebnis ($p=0,026$) (siehe Abbildung 4.16).

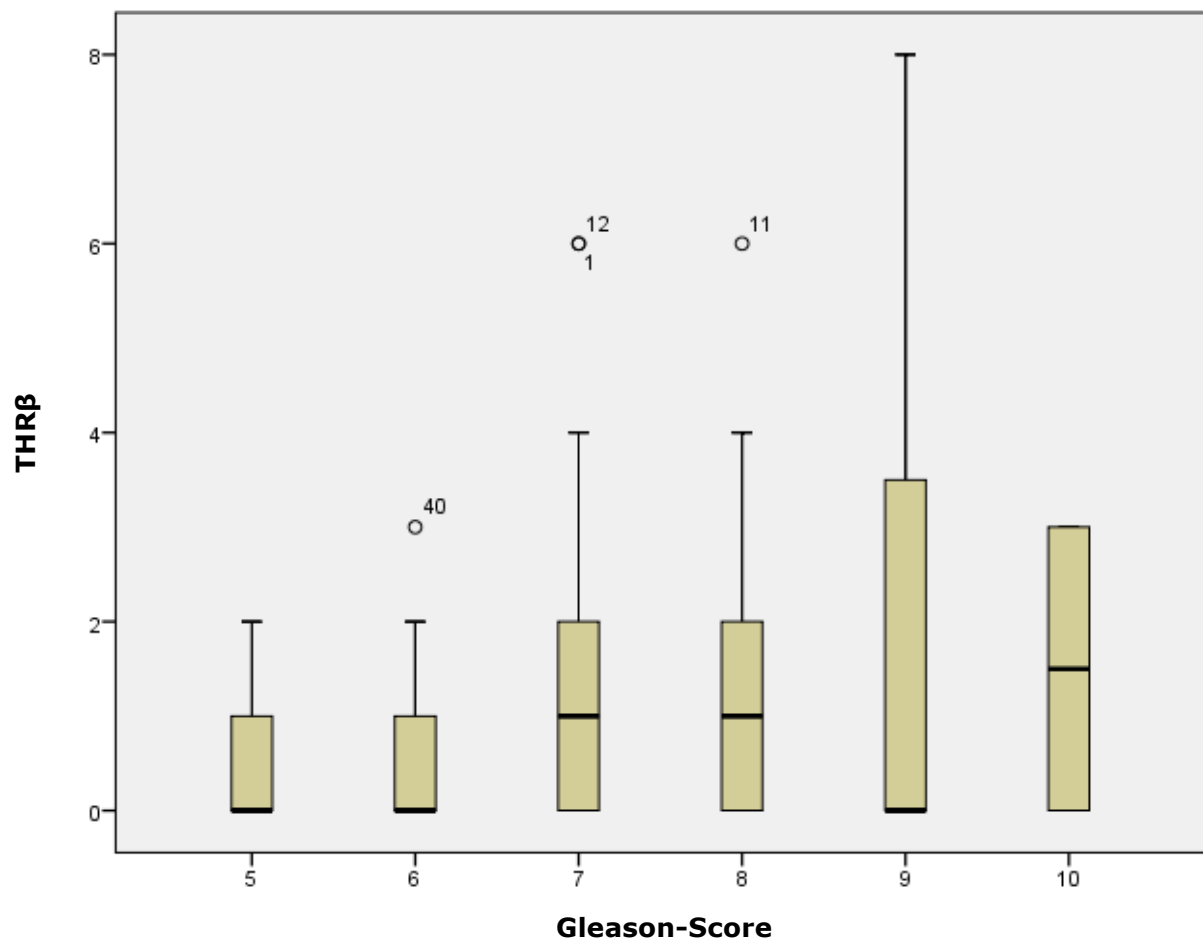


Abbildung 4.16: THRβ Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score

Ebenso zeigt sich eine hohe Signifikanz ($p=0,002$) zwischen der Expression des THRβ und dem Gleason-Score in 3 Gruppen (≤ 6 , 7, ≥ 8) (siehe Abbildung 4.17).

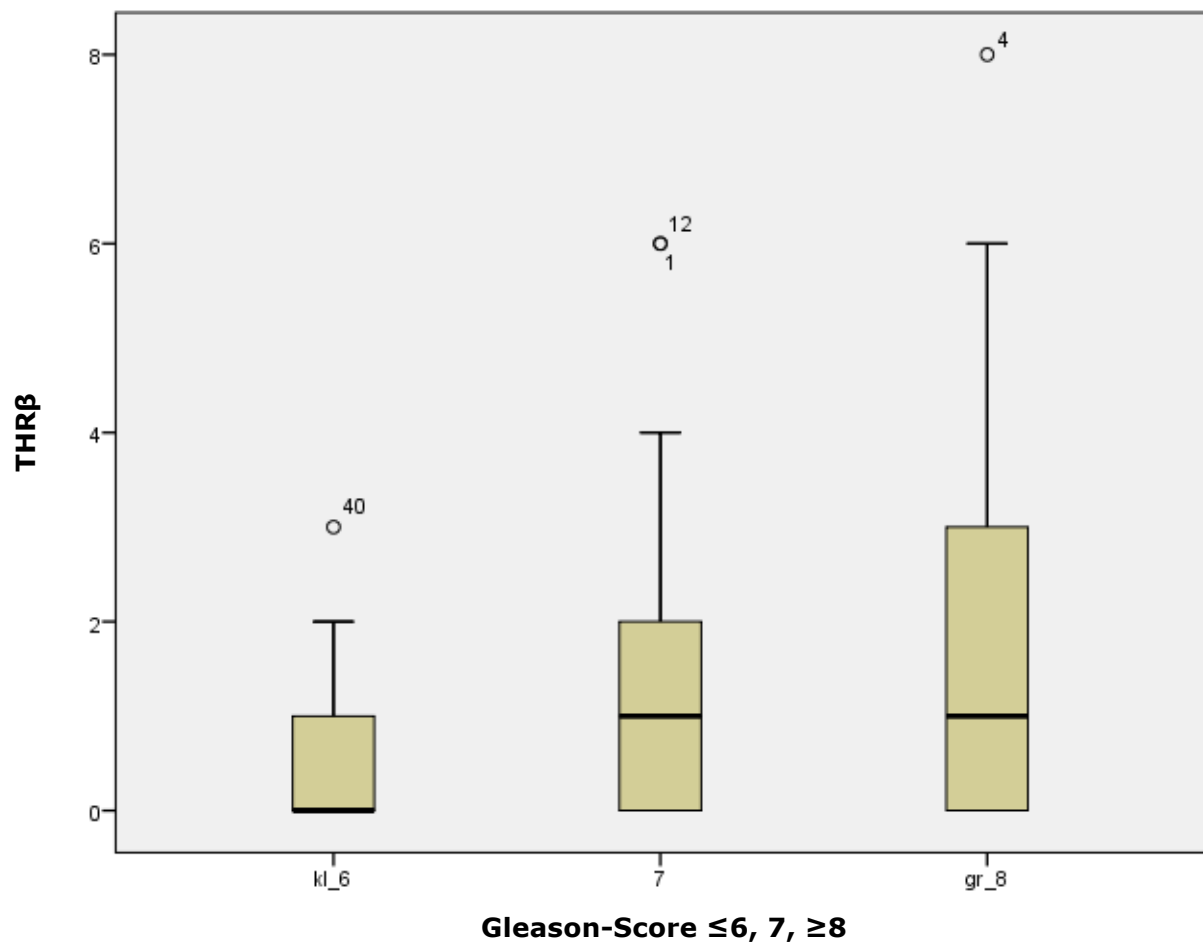


Abbildung 4.17: THRβ Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score (≤ 6 , 7, ≥ 8)

Bei der Korrelation der Expression von THRβ und der Graduierung liegt ein statistisch hoch signifikantes Ergebnis vor ($p=0,001$) (siehe Abbildung 4.18).

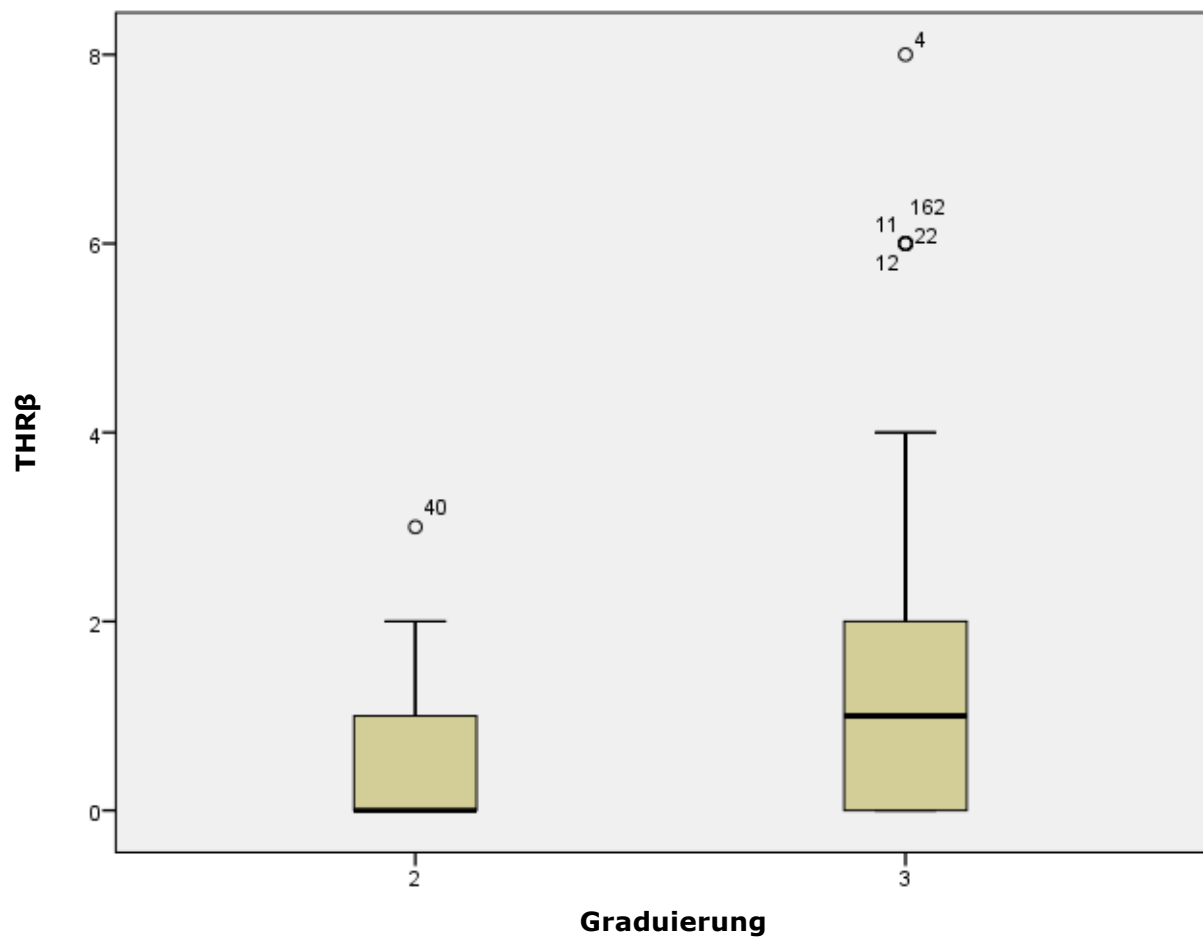


Abbildung 4.18: THRβ Expression (anhand des IRS) in Relation zur Graduierung

Für das Gesamtüberleben zeigt sich bei THRβ keine Korrelation ($p=0,314$).

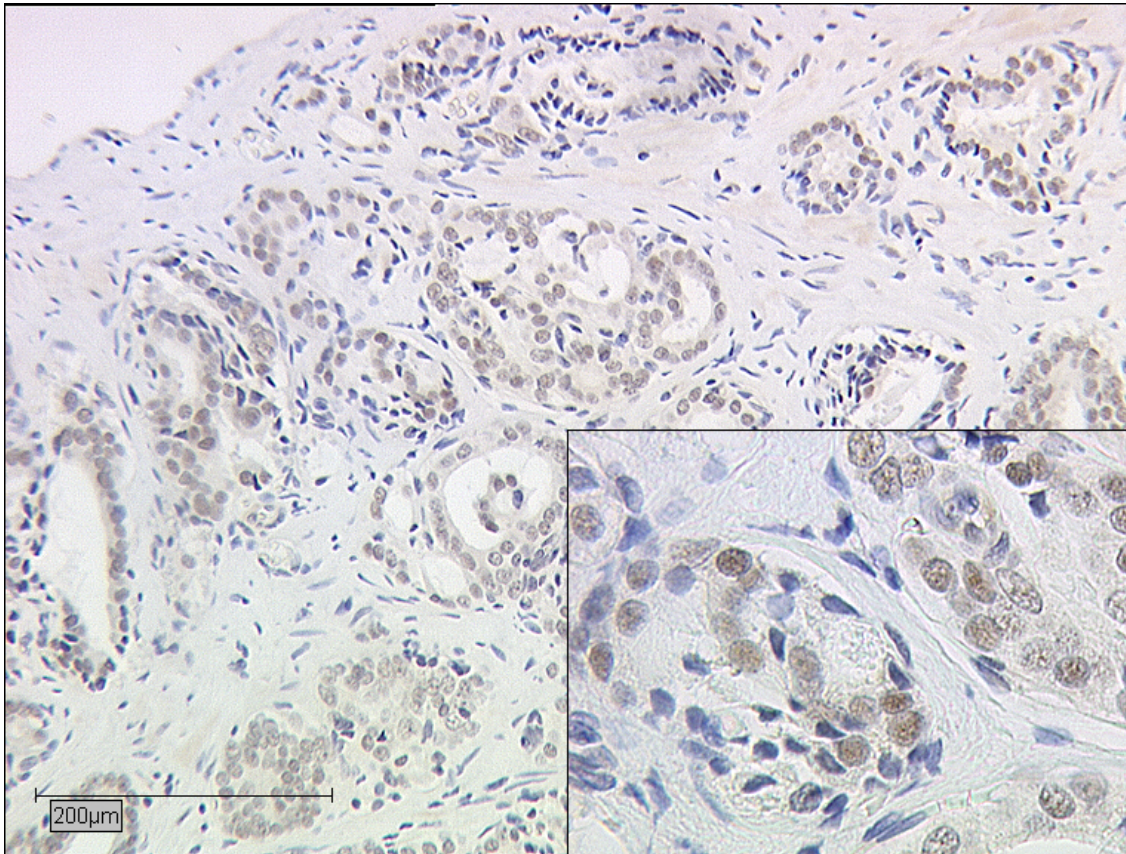


Abbildung 4.19: THRβ Expression

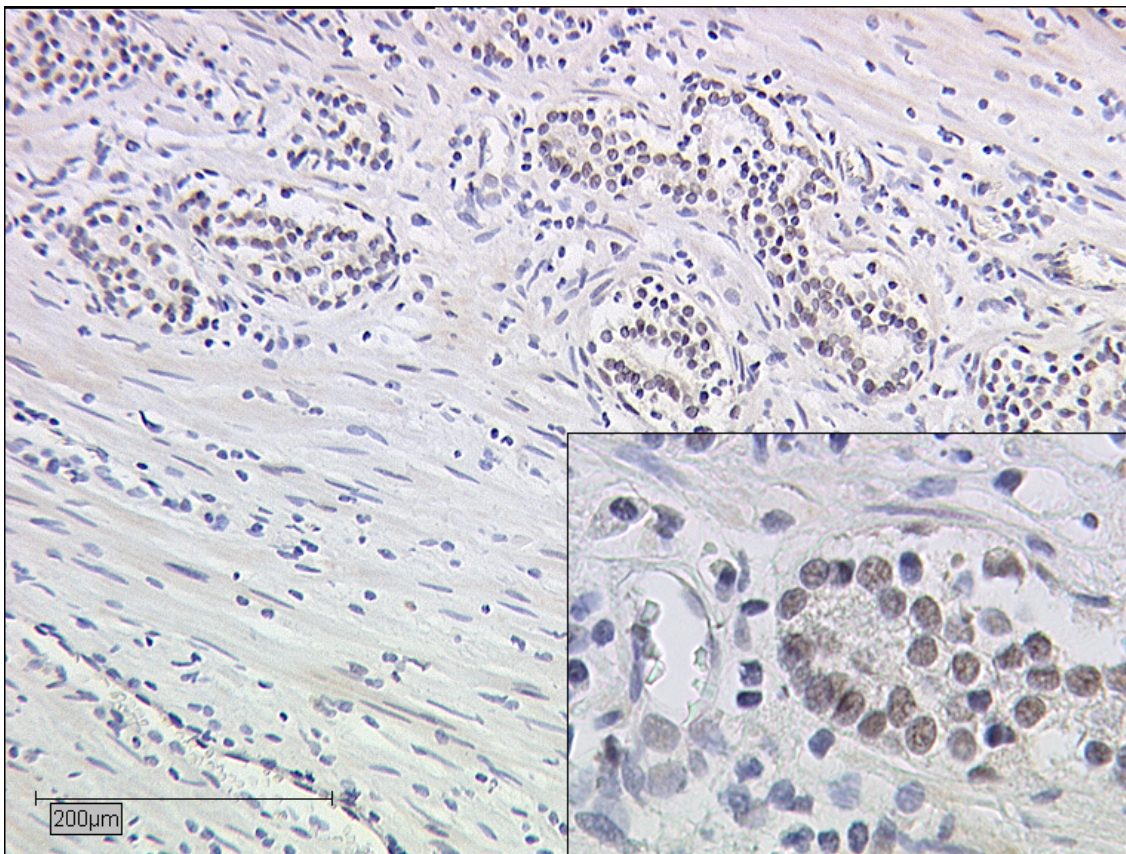


Abbildung 4.20: THRβ Expression

4.5 VDR

Alle 177 Fälle (100 %) können ausgewertet werden. Nukleär wird der Rezeptor bei 94 Fällen (53,1 %) exprimiert. Die Expression des VDR stellt sich wie in Tabelle 4.10 aufgeführt folgendermaßen dar: Bei 83 Patienten (46,9 %) liegt keine Expression des Rezeptors vor. Ein IRS von 1 zeigt sich bei 23 (13,0 %), ein Wert von 2 bei 33 (18,7 %) und ein Score von 3 bei 19 (10,7 %). Des Weiteren lässt sich bei 13 Personen (7,3 %) ein Score von 4 und bei weiteren 6 Patienten (3,4 %) ein IRS von 6 nachweisen. Der Mittelwert des IRS liegt bei 1,34. Im Zytoplasma wird der VDR bei 60 Patienten (33,3 %) exprimiert.

| IRS (VDR) | Häufigkeit | Prozent (%) |
|-----------|------------|-------------|
| 0 | 83 | 46,9 |
| 1 | 23 | 13,0 |
| 2 | 33 | 18,7 |
| 3 | 19 | 10,7 |
| 4 | 13 | 7,3 |
| 6 | 6 | 3,4 |
| Gesamt | 177 | 100,0 |

Tabelle 4.5: IRS: VDR

Zwischen der Expression des VDR und dem Gleason-Score kann keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden ($p=0,284$) (siehe Abbildung 4.21).

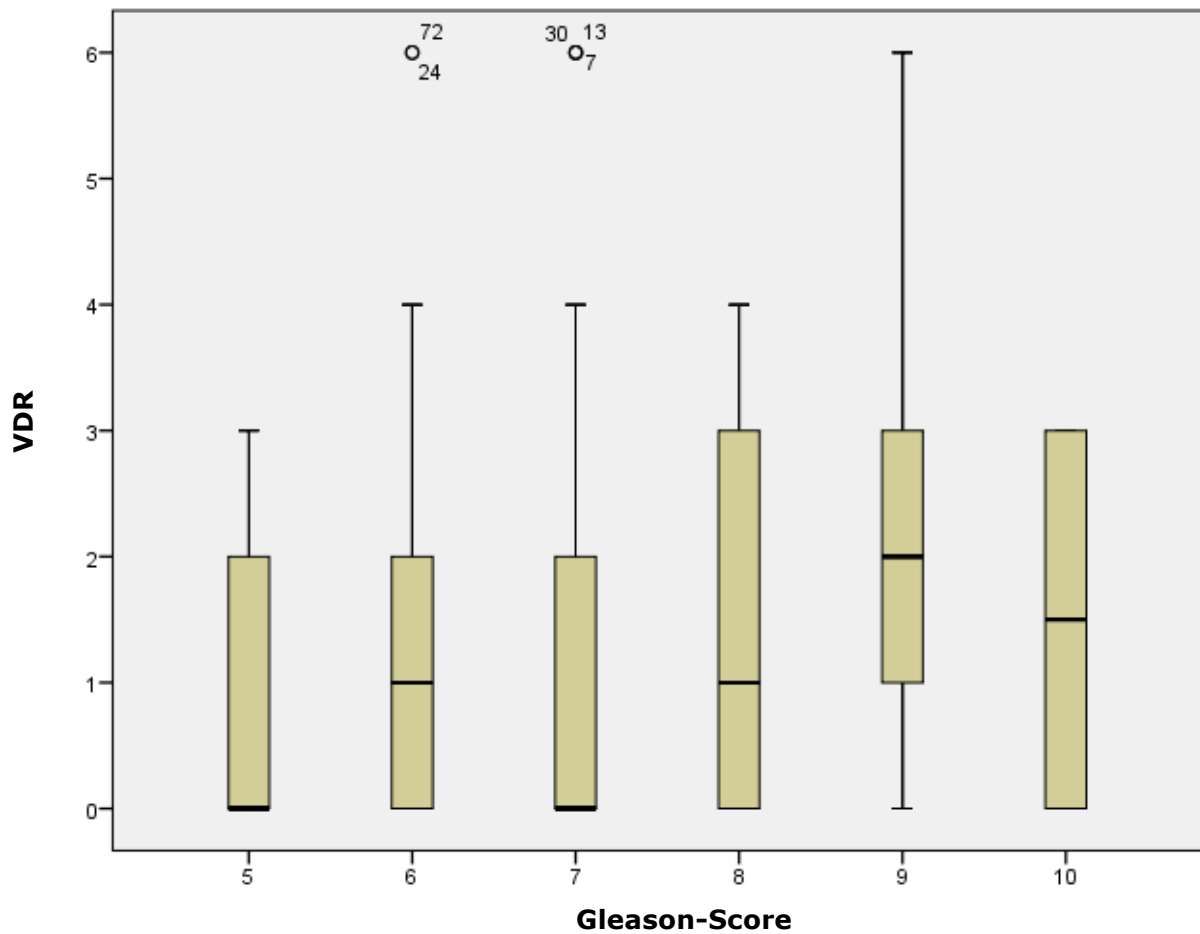


Abbildung 4.21: VDR Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score

Auch bei der Unterteilung des Gleason-Scores in 3 Gruppen (≤ 6 , 7, ≥ 8) zeigt sich keine Korrelation bezüglich der VDR-Expression ($p=0,073$) (siehe Abbildung 4.22).

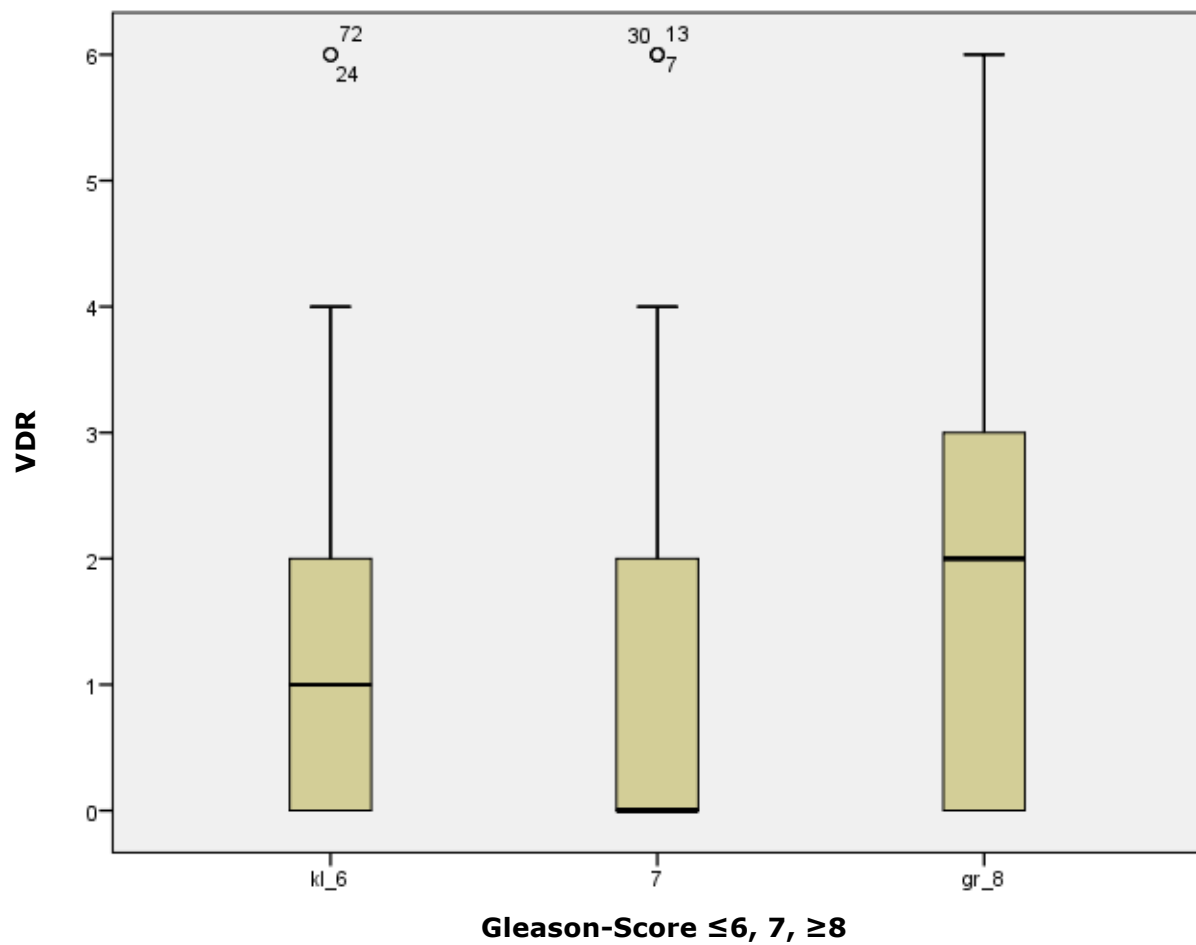


Abbildung 4.22: VDR Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score (≤ 6 , 7, ≥ 8)

Die Graduierung in Korrelation zur Expression des VDR ergibt ebenfalls keine Signifikanz ($p=0,561$) (siehe Abbildung 4.23).

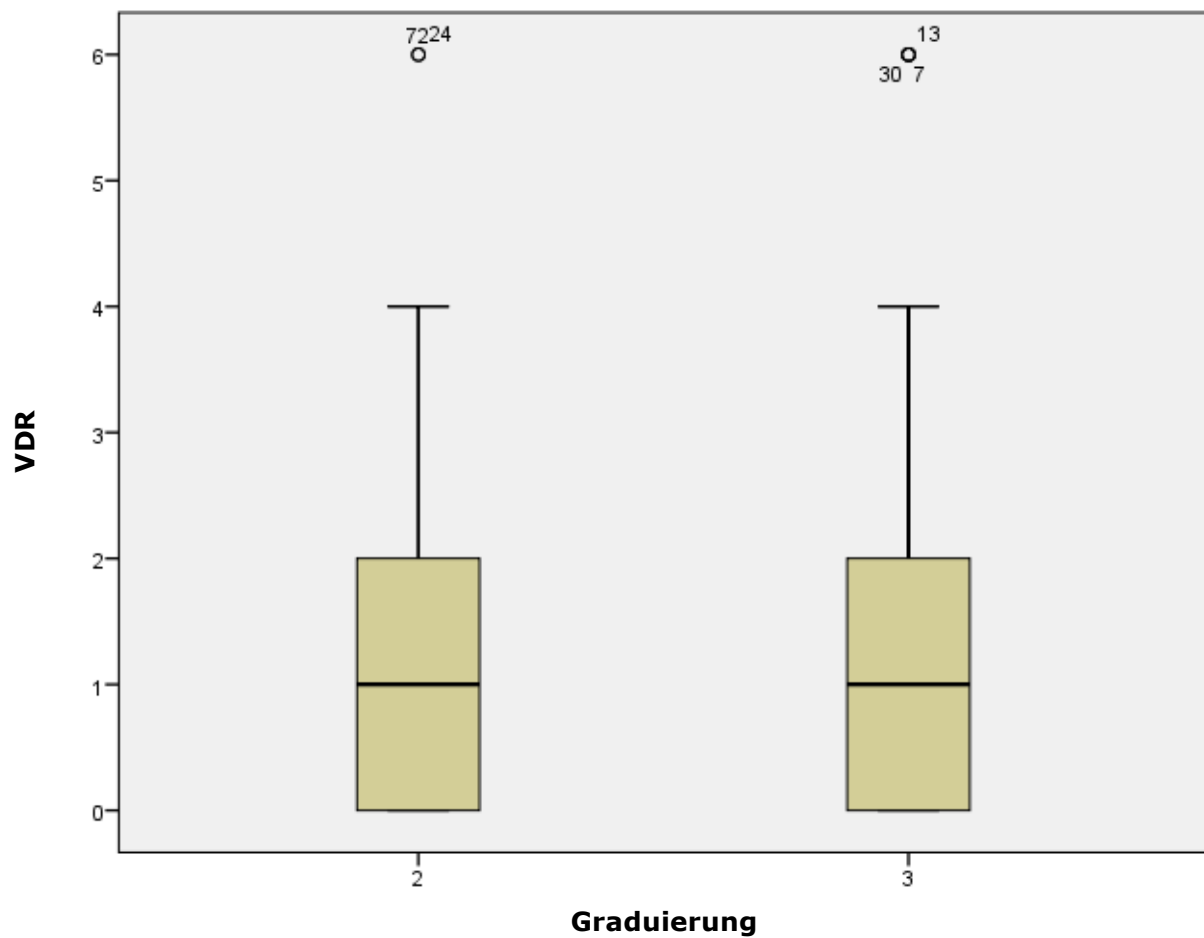


Abbildung 4.23: VDR Expression (anhand des IRS) in Relation zur Graduierung

Die Expression von VDR zeigt beim Gesamtkollektiv ein verlängertes Überleben im Vergleich zu Fällen ohne VDR-Expression ($p=0,045$).

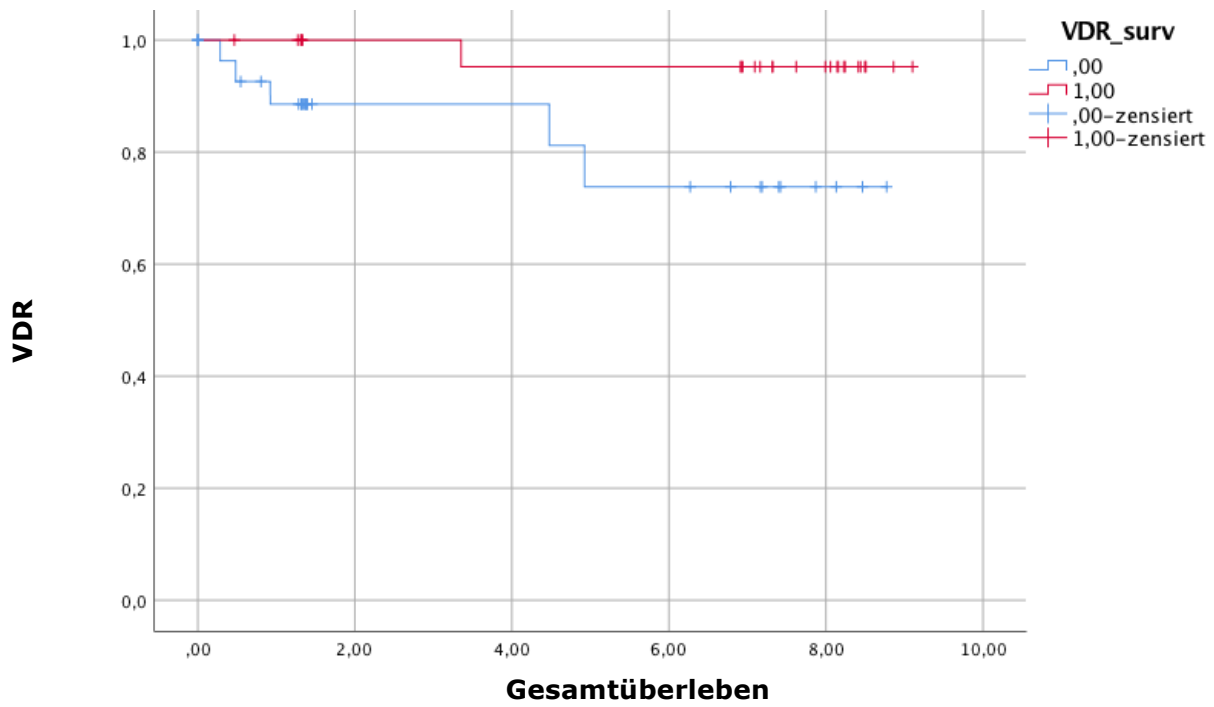


Abbildung 4.24: Gesamtüberlebn in Relation zur VDR-Expression

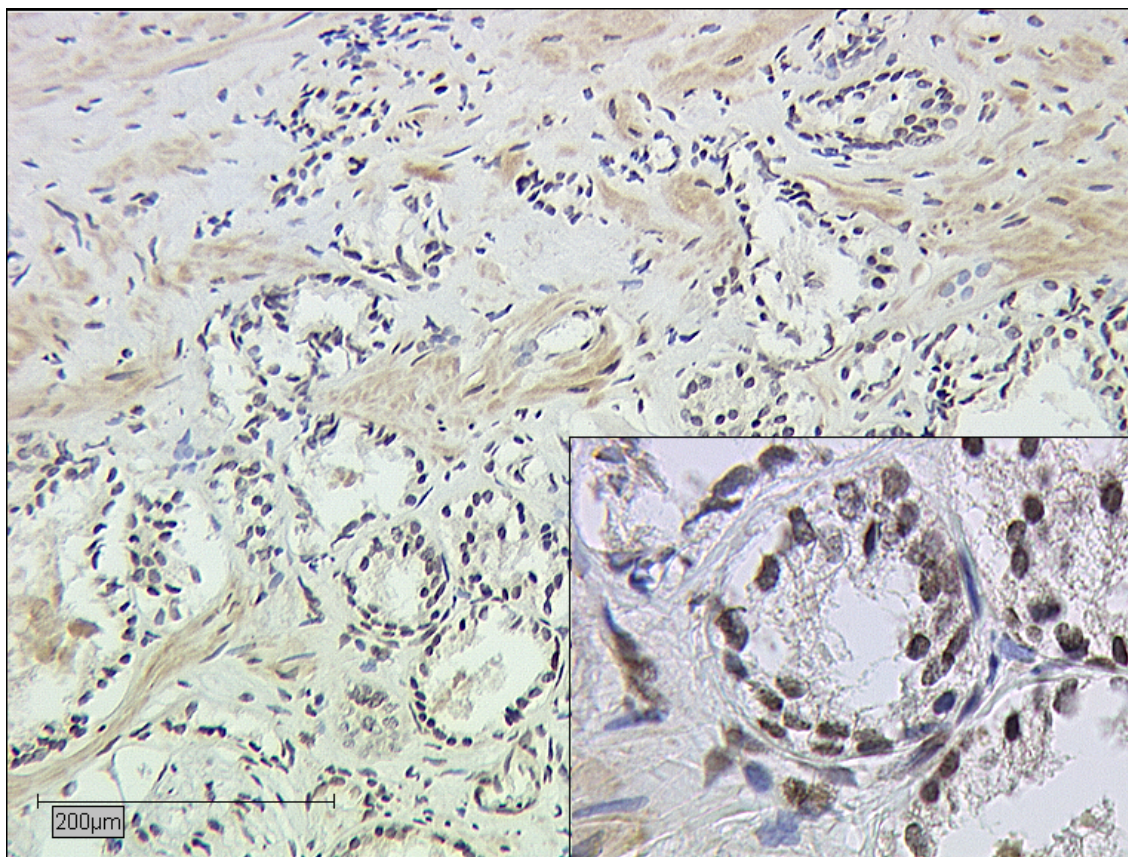


Abbildung 4.25: VDR Expression

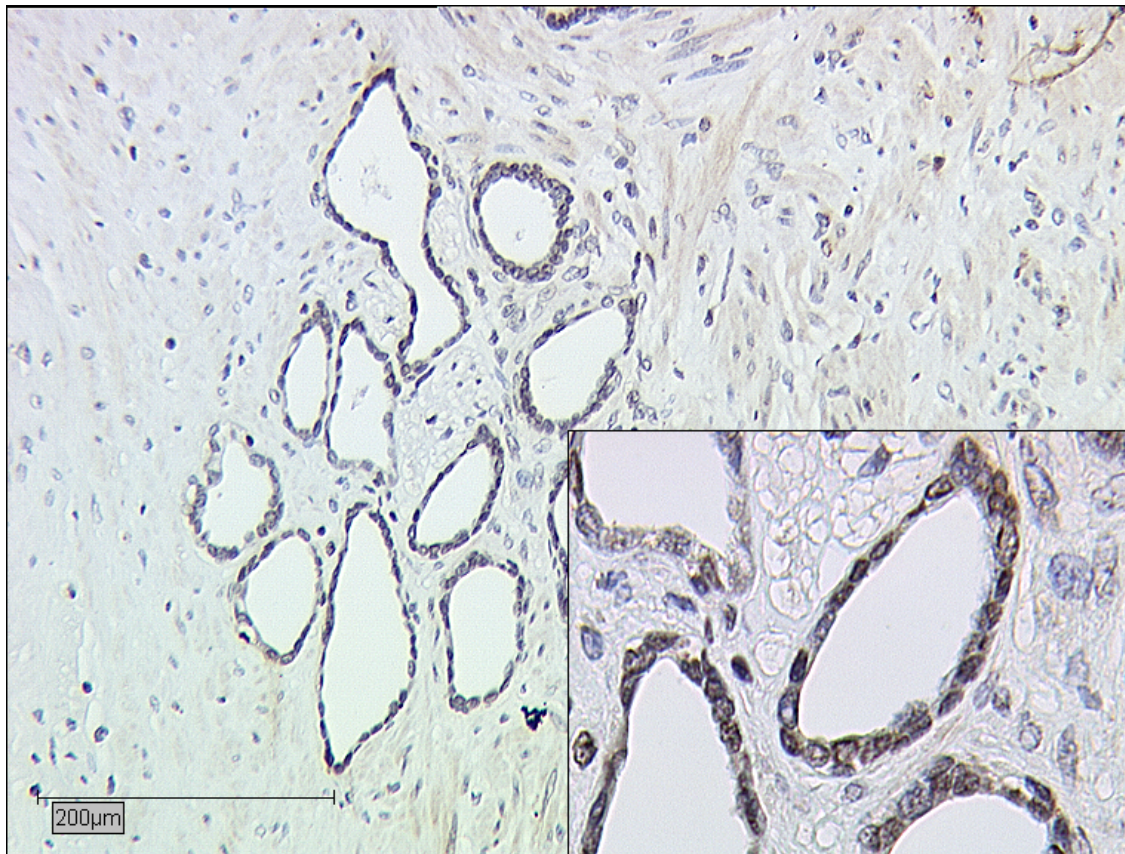


Abbildung 4.26: VDR Expression

4.6 ER α

Alle 177 Fälle (100 %) können ausgewertet werden. Bei insgesamt 33 Patienten (18,6%) lässt sich der Rezeptor nachweisen. Der größte Anteil (144 Patienten entsprechen 81,4 %) zeigt keine Expression des ER α . Ein IRS von 1 zeigt sich bei 15 Patienten (8,5 %), ein Score von 2 bei 16 Patienten (9,0 %) und ein Score von 4 bei 2 (1,1 %) Patienten (siehe Tabelle 4.6). Der IRS-Mittelwert liegt bei 0,31. Im Zytoplasma findet sich keine Expression des Rezeptors.

| IRS (ER α) | Häufigkeit | Prozent (%) |
|--------------------|------------|-------------|
| 0 | 144 | 81,4 |
| 1 | 15 | 8,5 |
| 2 | 16 | 9,0 |
| 4 | 2 | 1,1 |
| Gesamt | 177 | 100,0 |

Tabelle 4.6: IRS: ER α

Die Korrelation des ER α und dem Gleason-Score zeigt eine hohe statistische Signifikanz ($p=0,000$) (siehe Abbildung 4.27).

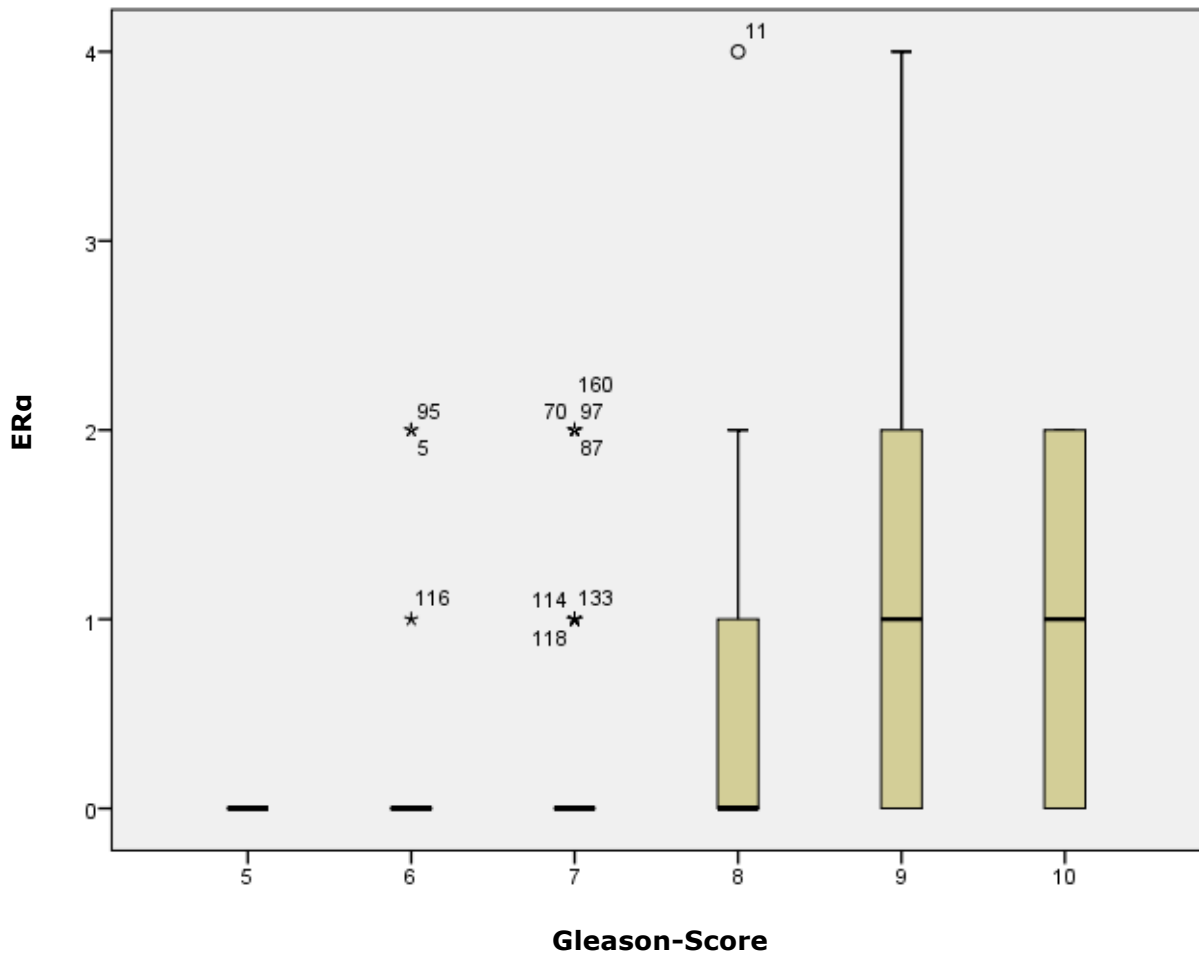


Abbildung 4.27: ER α Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score

Nach Unterteilung des Gleason-Scores in die 3 prognostisch relevanten Gruppen (≤ 6 , 7, ≥ 8) zeigt sich eine Korrelation bezüglich der Expression des ER α ($p=0,000$) (siehe Abbildung 4.28).

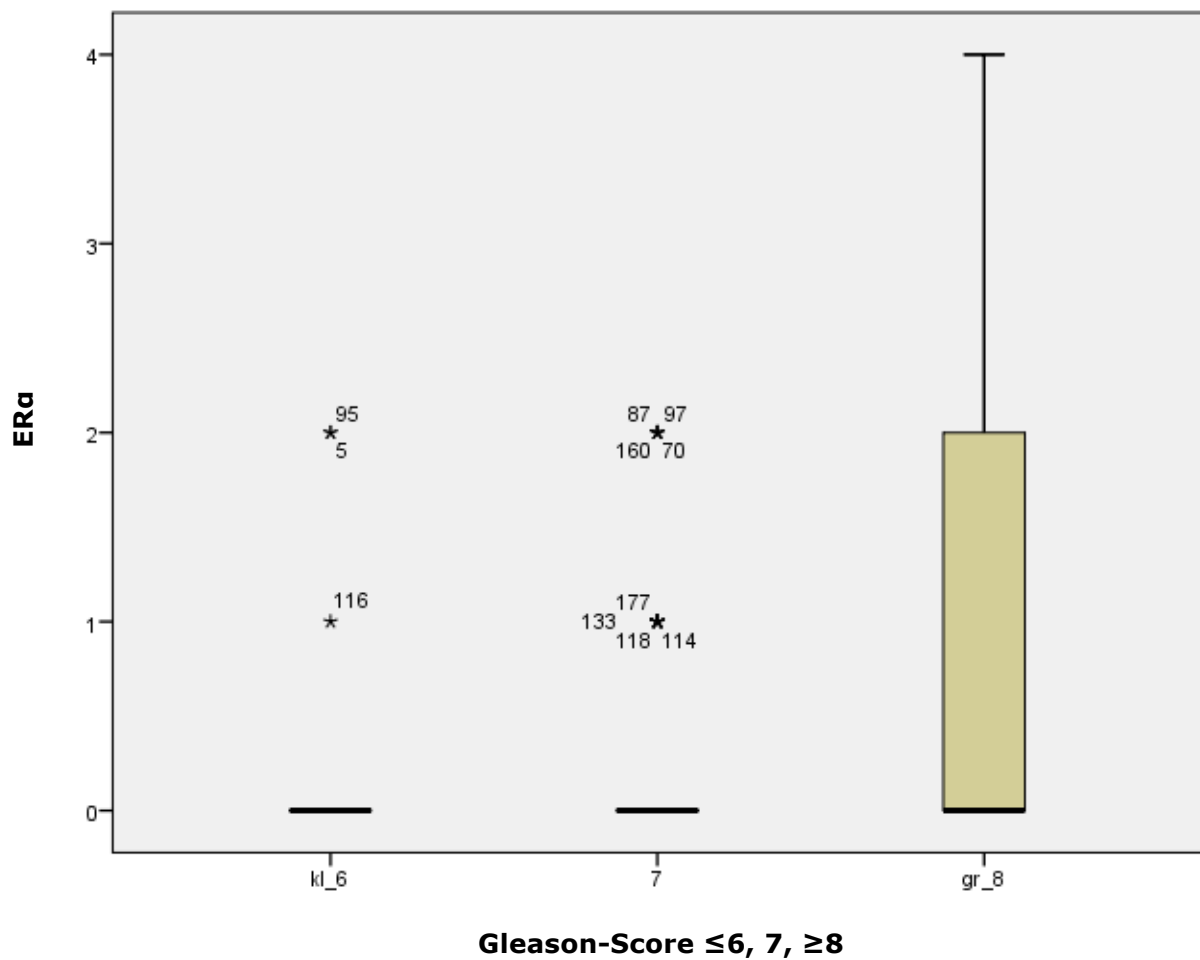


Abbildung 4.28: ERα Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score (≤ 6 , 7, ≥ 8)

Ebenso korreliert die Expression des ERα mit der Graduierung hoch signifikant ($p=0,000$) (siehe Abbildung 4.29).

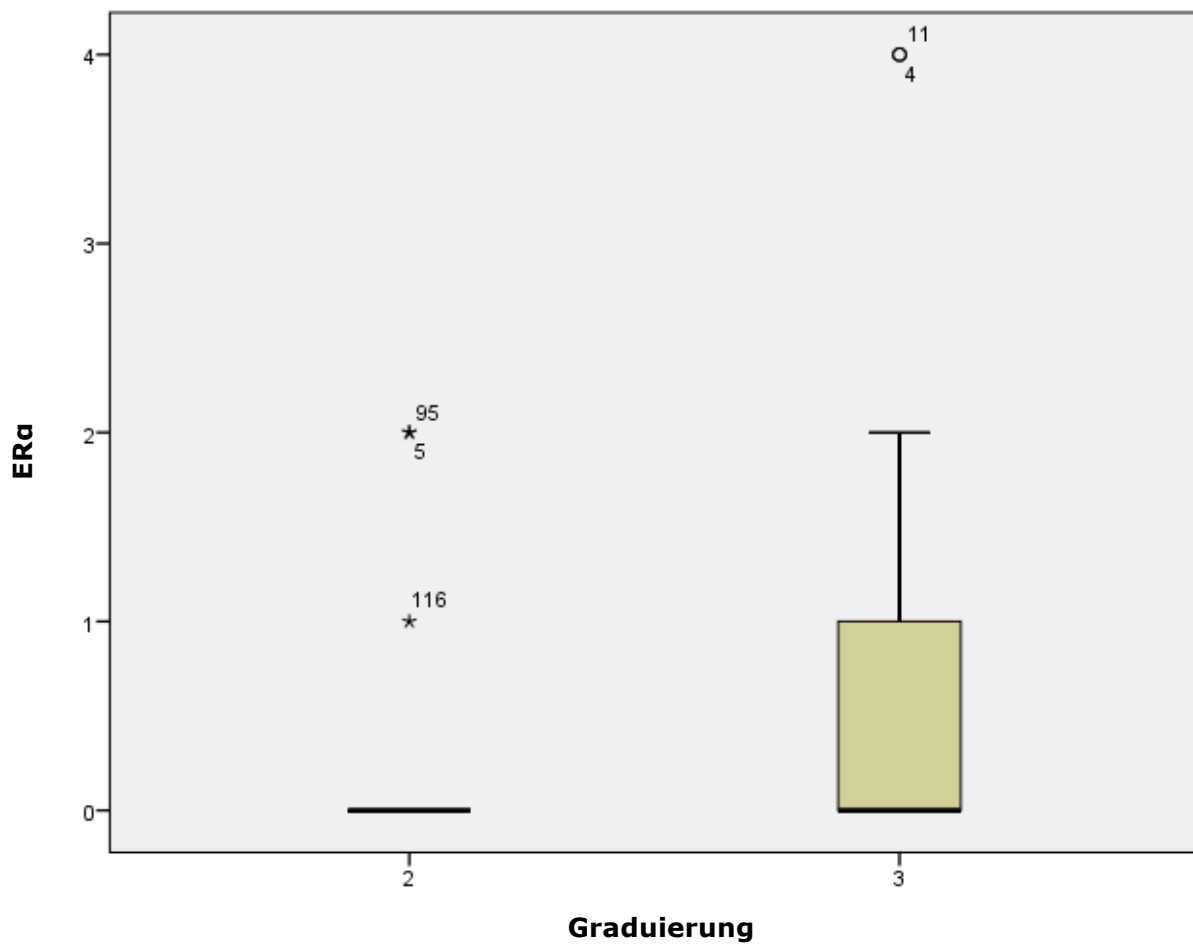


Abbildung 4.29: ERα Expression (anhand des IRS) in Relation zur Graduierung

Hinsichtlich des Gesamtüberlebens zeigt sich keine statistisch signifikante Korrelation ($p=0,868$).

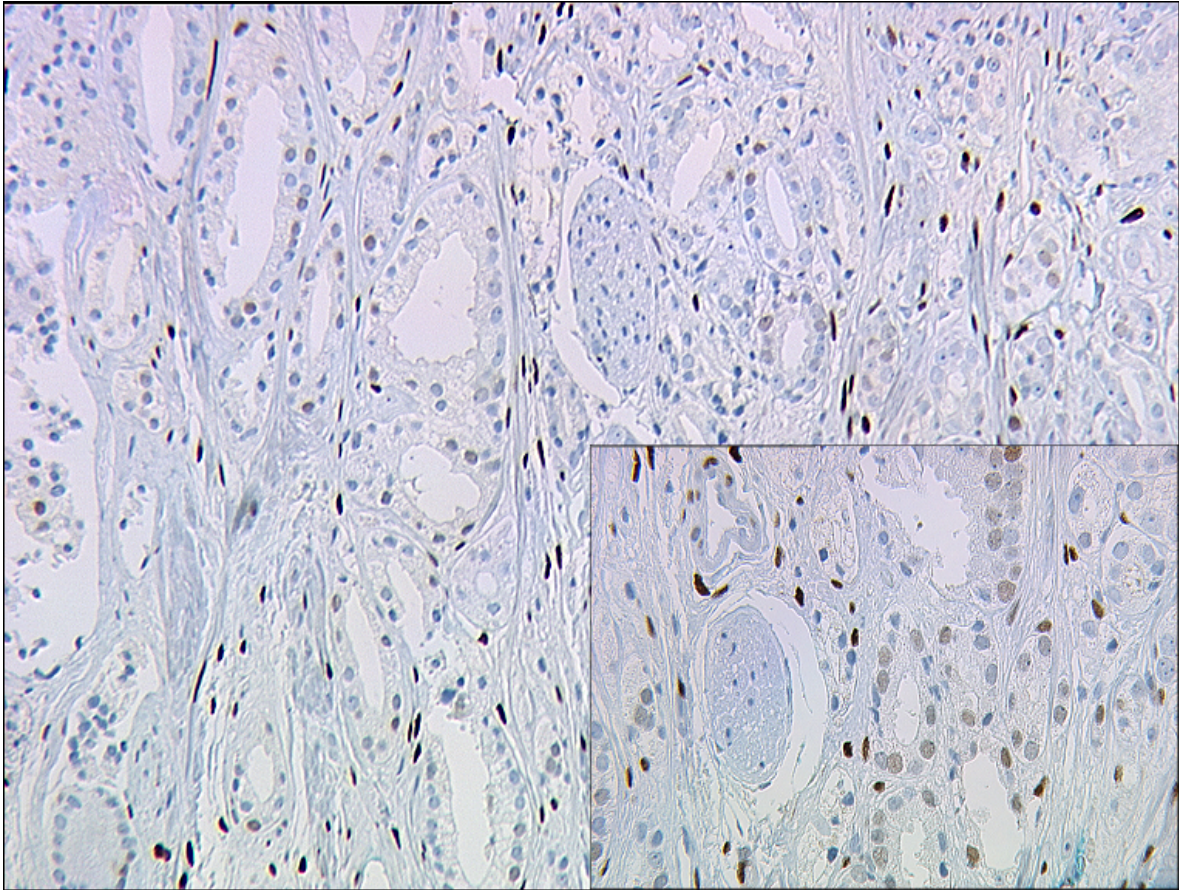


Abbildung 4.30: ERα Expression

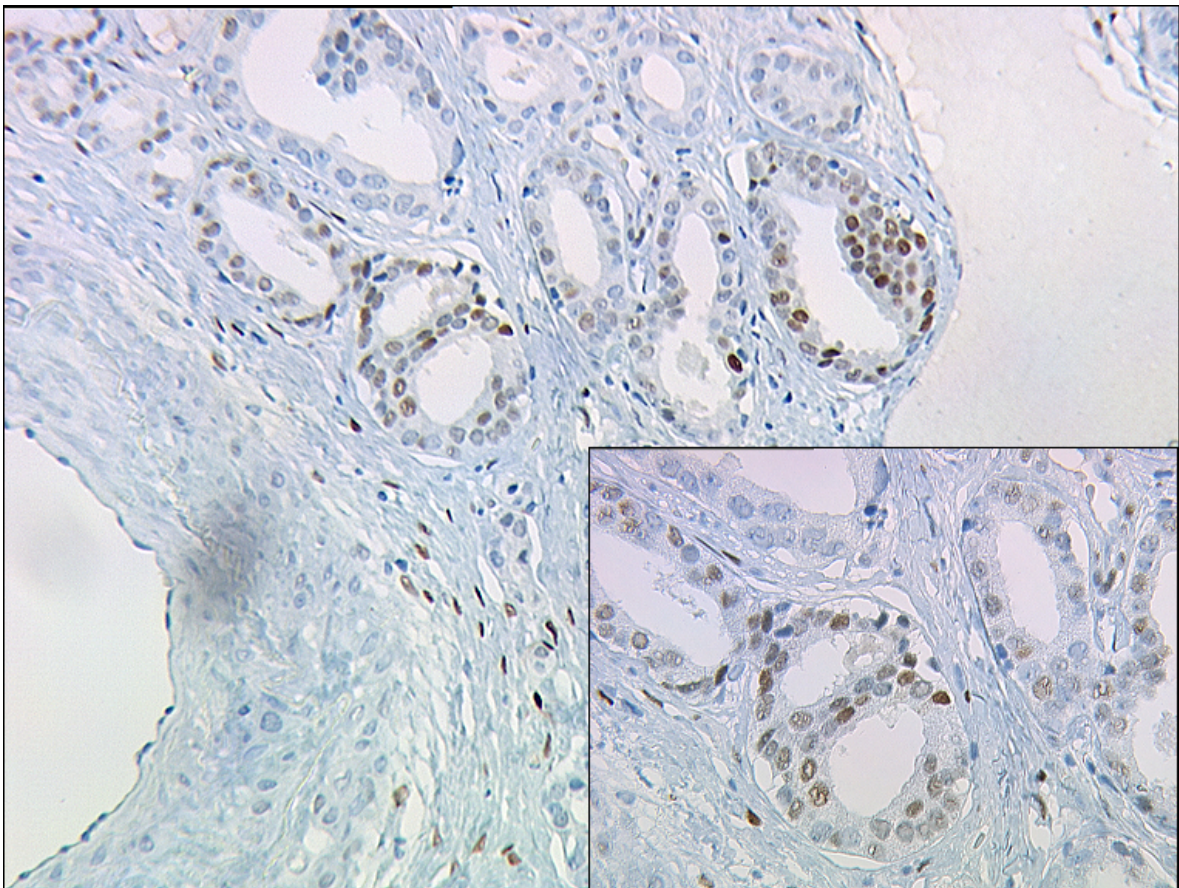


Abbildung 4.31: ERα Expression

4.7 PR

Alle 177 Fälle (100 %) können ausgewertet werden. Folgende Ergebnisse werden erzielt: Bei insgesamt 9 Patienten (5,1 %) findet sich eine nukleäre Expression des PR. Dabei liegt bei 3 Patienten (1,7 %) ein IRS von 1 vor, bei 4 Patienten (2,2 %) ein Score von 2. Und bei jeweils einem Patienten (0,6 %) ein Score von 3 bzw. 4. Die restlichen 168 Fälle (94,9 %) sind komplett negativ (Score 0) (siehe Tabelle 4.7). Der Mittelwert des IRS liegt bei 0,1. Eine Expression im Zytoplasma findet nicht statt.

| IRS (PR) | Häufigkeit | Prozent (%) |
|----------|------------|-------------|
| 0 | 168 | 94,9 |
| 1 | 3 | 1,7 |
| 2 | 4 | 2,2 |
| 3 | 1 | 0,6 |
| 4 | 1 | 0,6 |
| Gesamt | 177 | 100,0 |

Tabelle 4.7: IRS: PR

Die Expression des PR korreliert hoch signifikant mit dem Gleason-Score ($p=0,000$) (siehe Abbildung 4.32).

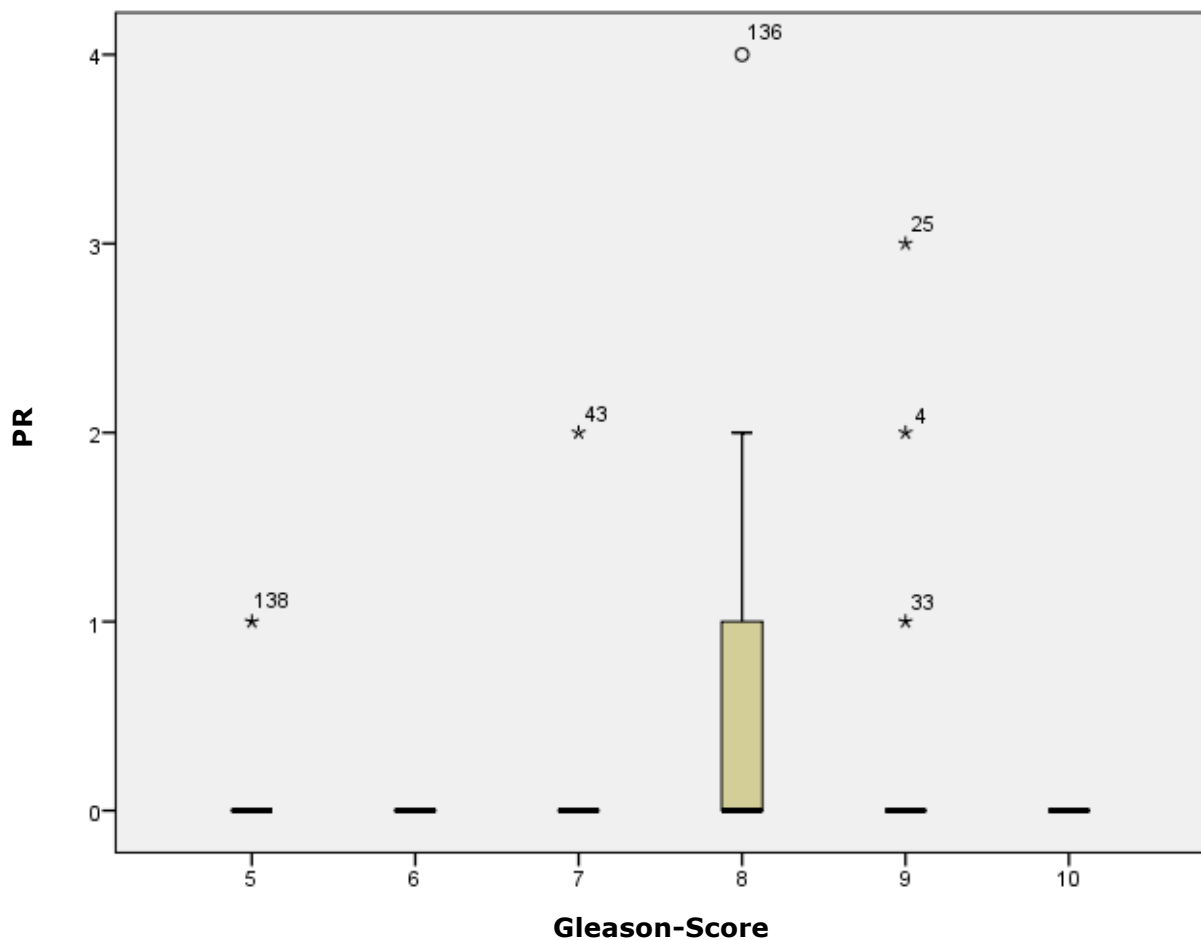


Abbildung 4.32: PR Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score

Die Korrelation zwischen der PR Expression und dem Gleason-Score in 3 Gruppen (≤ 6 , 7, ≥ 8) ist ebenfalls hoch signifikant ($p=0,000$) (siehe Abbildung 4.33).

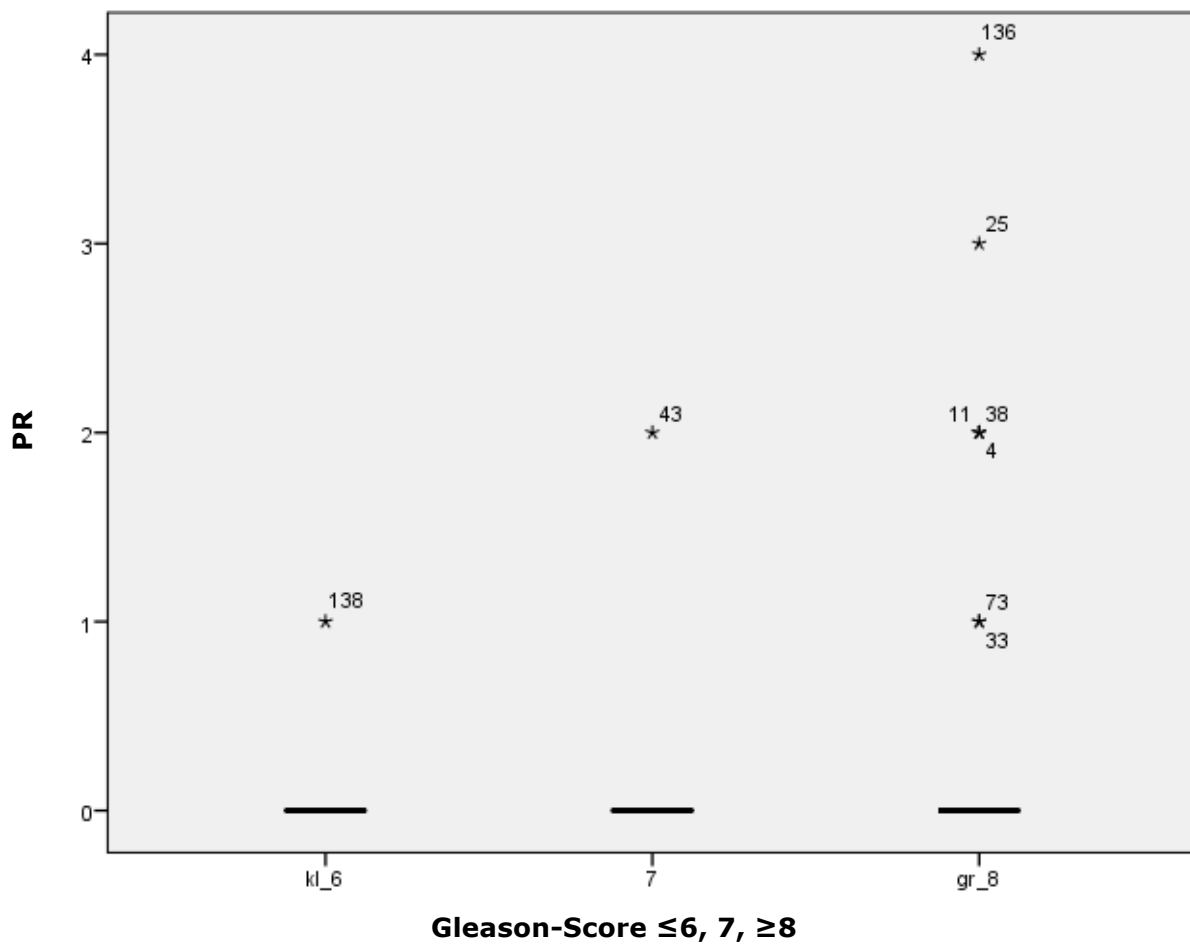


Abbildung 4.33: PR Expression (anhand des IRS) in Relation zum Gleason-Score (≤ 6 , 7, ≥ 8)

Hingegen findet sich keine Korrelation zwischen PR Expression und der Graduierung ($p=0,98$) (siehe Abbildung 4.34).

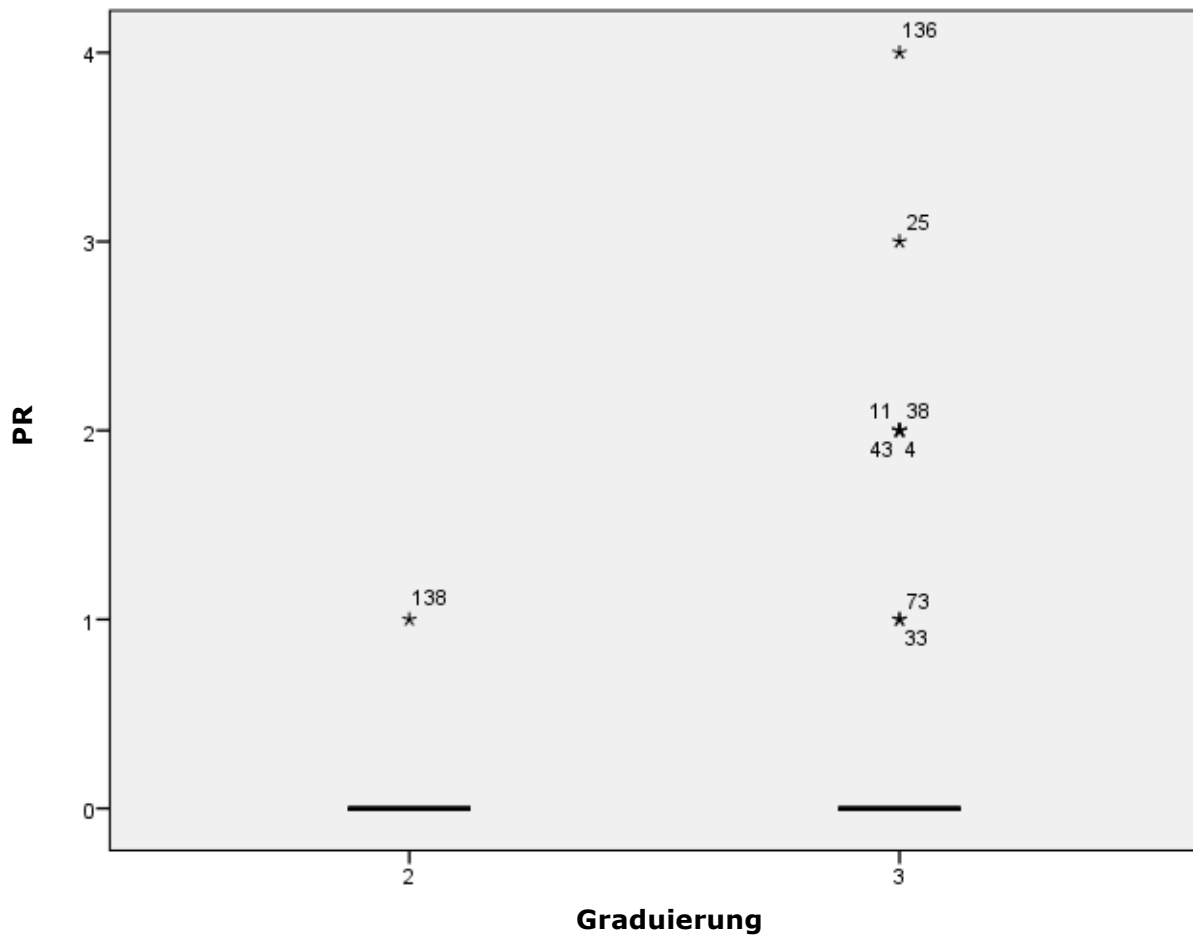


Abbildung 4.34: PR Expression (anhand des IRS) in Relation zur Graduierung

Die Korrelation zum Gesamtüberleben zeigt keine Signifikanz ($p=0,533$).

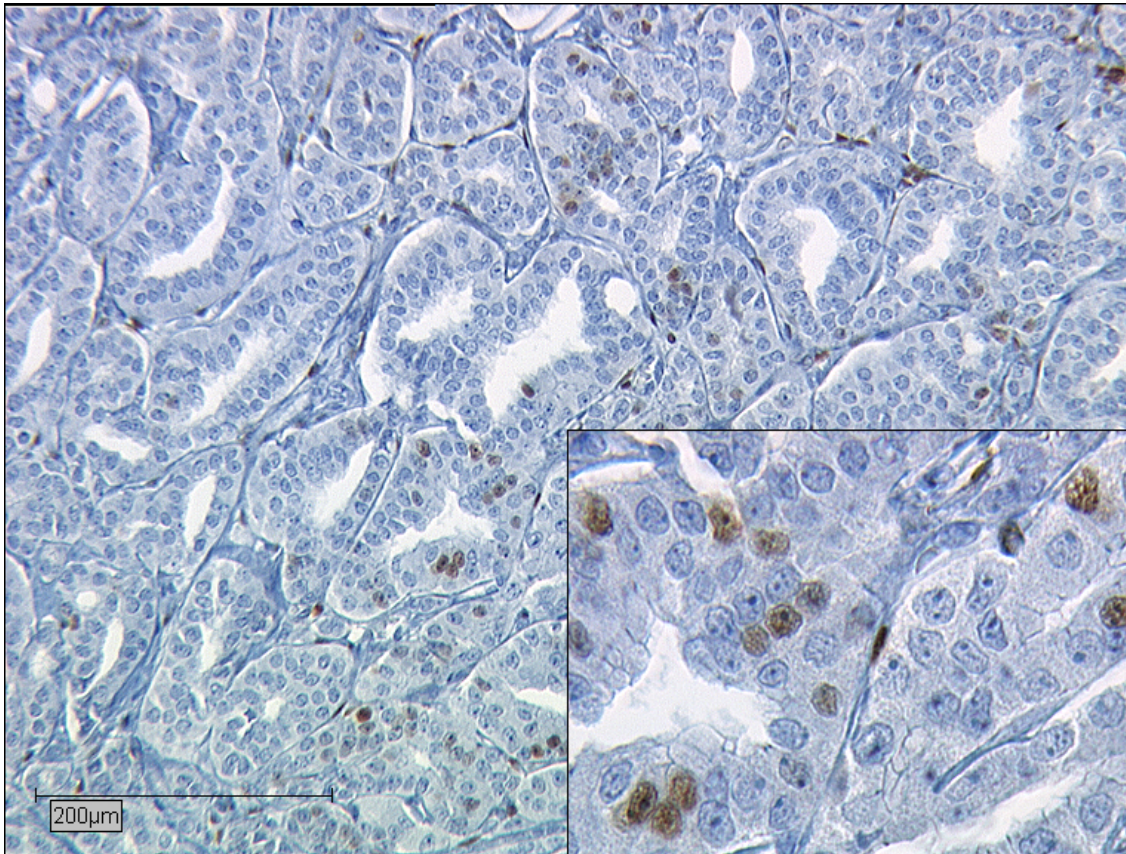


Abbildung 4.35: PR Expression

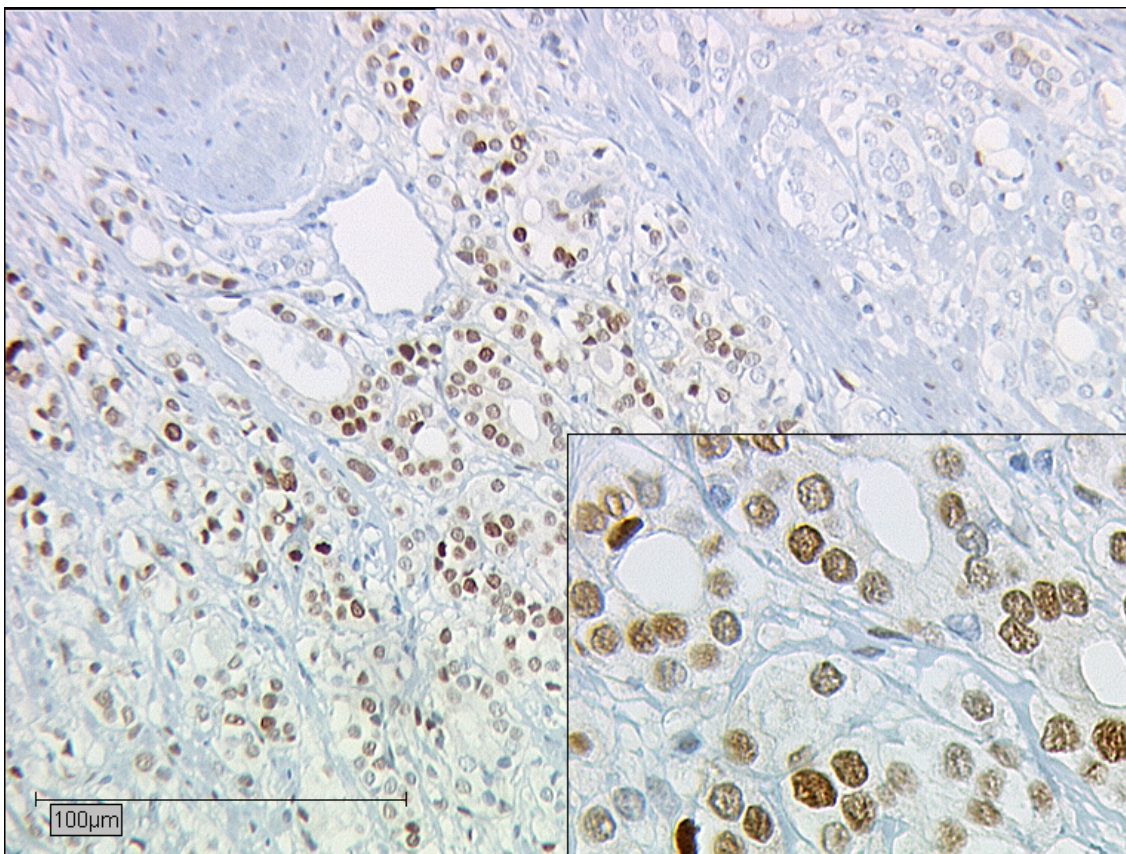


Abbildung 4.36: PR Expression

5 Diskussion

Beim Prostatakarzinom handelt es sich in Deutschland um das häufigste Tumorleiden des Mannes [3].

In der Therapie des Prostatakarzinoms spielen, in Abhängigkeit vom Tumorstadium, Patientenalter und Komorbiditäten, die Operation, Strahlentherapie, hormonablativ Therapie sowie Chemotherapie wichtige Rollen. Diagnostisch sind insbesondere die DRU, die TRUS sowie die histologische Auswertung einer Stanzbiopsie entscheidend. Prognostisch relevant sind der Gleason-Score, das Tumorstadium, der PSA-Wert sowie die chirurgischen Resektionsränder [6].

Klassische Therapieverfahren sind zwar wirksam, bleiben aber bei fortgeschrittener Erkrankung in ihren Möglichkeiten eingeschränkt. Operation und Strahlentherapie wirken lediglich lokal. Systemische Chemotherapie bewirkt zusätzlich die Reduktion von Metastasen, führt jedoch auch zur Schädigung von gesundem Gewebe und somit zu erheblichen Nebenwirkungen. Bei Karzinomen mit niedrigem Risikoprofil kommt es hingegen oft zu einer Übertherapie (OP, Strahlentherapie, Brachytherapie), die wiederum häufig zu Komplikationen führt (Harn- und Stuhlinkontinenz, erektile Dysfunktion). Über die Relevanz und Korrelation von steroidalen und nichtsteroidalen Hormonrezeptoren in Bezug zur Graduierung bzw. Gleason-Score ist beim Prostatakarzinom wenig bekannt. Die Suche nach Zielmolekülen als Ansatzpunkt für neue Therapieoptionen im Sinne einer targeted therapy ist für nebenwirkungsärmere Behandlungskonzepte sinnvoll. Ziel der targeted therapy ist es Medikamente zu entwickeln, die spezifisch an malignen Zellen wirken, und nicht bzw. nur gering an gesunden Körperzellen. So soll effektiv das Karzinom therapiert werden und weniger Nebenwirkungen/Komplikationen auftreten [139], [5].

Ziel dieser Arbeit ist es daher, zu untersuchen, ob sich anhand der Expression von steroidalen oder nichtsteroidalen Hormonrezeptoren beim Prostatakarzinom Subklassen identifizieren und sich daraus neue

Strategien für individuelle Therapien ableiten lassen. Weiterhin wäre es wünschenswert, wenn sich anhand der Rezeptoranalyse Aussagen zur Prognose des Karzinoms getroffen werden könnten.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Expression verschiedener Rezeptoren der Kernrezeptorsuperfamilie. Es handelt sich dabei um steroidale (ER α , ER β , PR) und nichtsteroidale (VDR, THR α 1/2, THR β , RXR) Rezeptoren. Durch Aktivierung bzw. Inhibierung der Rezeptoren durch entsprechende Hormone an den Zellen kommt es zur Hemmung bzw. Steigerung der Transkription von Genen. Diese bewirken somit Tumorwachstum bzw. -hemmung und spielen so eine entscheidende Rolle bei der Tumorpheriferation. Im Rahmen der Forschung der targeted therapy sind die Rezeptoren Zielmoleküle um spezifische Medikamente zu entwickeln [5], [39], [40].

Unsere Untersuchungsergebnisse zeigen, dass alle Rezeptoren unterschiedlich stark im Prostatakarzinom exprimiert werden. Bis auf ER α und PR kommen zudem alle Rezeptoren auch im Zytoplasma vor. Auffällig ist, dass die Expression der Rezeptoren im Kern scheinbar mit der des Zytoplasmas korreliert. Je höher die Expression der Rezeptoren im Kern ist, desto höher ist auch die Expression im Zytoplasma, wobei die Expression der jeweiligen Rezeptoren im Kern immer über der im Zytoplasma liegt.

Am häufigsten zeigt sich eine Expression der Rezeptoren im Zytoplasma bei ER β , THR α 1/2, RXR α und VDR. Hierzu liegen für ER β , RXR α und VDR Publikationen beim Prostatakarzinom vor, die dies bestätigen [140], [88], [118], [115]. Der Grund für die höheren Expressionsraten im Zellkern liegt wahrscheinlich darin, dass es sich bei den untersuchten Rezeptoren um sogenannte Kernrezeptoren handelt, die physiologisch im Zellkern vorzufinden sind. Hier kommt es zur Bildung des Hormon-Rezeptor-Komplexes, der an die regulatorischen Promotorelemente der DNA bindet und zur Aktivierung bzw. Hemmung der Transkription der Gene führt [39]. Für THR α 1/2 wird die Expression im Prostatakarzinom im Zytoplasma bisher nicht beschrieben. Es finden sich hingegen Untersuchungen in

anderen Gewebearten, in denen sich zeigt, dass der Rezeptor im Zytoplasma vorzufinden ist. Hier dient er als Transporter von T3/4 zum Zellkern, was die oben beschriebene Expression von $THR\alpha$ 1/2 im Zellkern erklären könnte [141], [142], [143].

ER β liegt, wenn nicht stimuliert, im Zytoplasma als Monomer vor. Der hormonbeladene Rezeptor dimerisiert nach Bindung von Östrogen beta zu Homodimeren und wird so in den Zellkern transportiert [39]. Dies könnte den Nachweis im Zytoplasma erklären.

Liu et al. kommen zu dem Ergebniss, dass es neben dem bekannten regulatorischen Einfluss auf die DNA auch zu nicht genomischen Effekten im Zytoplasma, vermittelt durch RXR α , kommt [144]. Durch Heterodimerisierung mit Nur77 (nerve growth factor IB) ist RXR α in der Lage mit bcl-2 (B-cell-lymphoma-Protein) zu interagieren und an Mitochondrien zu binden. Dies führt zur Freisetzung von Cytochrom C, was zur Apoptose der Zelle führt [145].

Der Nachweis von VDR im Zytoplasma ist beim Prostatakarzinom sowie beim Mammakarzinom möglich [146], [115]. Im Gegensatz zu seiner tumorhemmenden Funktion als Hormon-Rezeptor-Komplex mit Vitamin D am Zellkern (siehe 1.2.4) scheint VDR beim Mammakarzinom ligandenunabhängig eine tumorproliferative Wirkung einzunehmen [146], [113]. Durch knockdown des VDR kommt es zu einer verminderten Zellproliferation. Ebenso führt die Therapie mit Vitamin D zu einer verminderten Tumorproliferation [146].

Zunahme der $THR\beta$ -Expression bei Tumorprogression

Eine ansteigende Expression von $THR\beta$ korreliert in der hier vorliegenden Arbeit signifikant mit einer höheren Graduierung und einem höheren Gleason-Score, sowohl nach Einzelscore, als auch nach Einteilung des Gleason-Score in 3 Gruppen (≤ 6 , 7, ≥ 8). Bisherige Veröffentlichungen in der Literatur schreiben $THR\beta$ zum einen eine onkogene und zum anderen eine tumorsuppressive Wirkung zu. Im Rahmen von Schilddrüsen- und Hypophysentumoren deuten Untersuchungen auf einen kanzerogenen

Effekt von THR β hin. Durch Mutation des THR β kommt es zur Dauerstimulation von Tumorpromotoren (z. B. Zyklin D1) und zur Reduktion von PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor - dient beim Schilddrüsenkarzinom als Tumorsuppressor). Zusätzlich verändert die Mutation die Bindung nichtmutierter Thyroidrezeptoren und Koregulatoren an der DNA [147]. Es zeigt sich auch bei TSH-produzierenden Tumoren ein mutierter THR β . Dieser ist unter Umständen für den Ausfall der negativen Rückkopplung verantwortlich [148]. Beim Ovarialkarzinom findet sich zwar eine Überexpression von THR β bei hohem FIGO-Stadium, eine Korrelation bezüglich rezidivfreiem Überleben und/oder Gesamtüberleben lässt sich jedoch nicht beobachten [149].

Demgegenüber steht die tumorsuppressive Wirkung beim Mammakarzinom in vitro. THR β führt zur Schwächung des JAK-STAT Signalweges und induziert die Apoptose der karzinogenen Zellen [150]. Eine weitere Studie am Mammakarzinom, die mehrere Antikörpertypen untersucht (THR β 1, THR β 2 und THR β 1/2), zeigt für THR β 1 und THR β 2 ebenfalls eine negative Korrelation bezüglich der Tumorprogression. Für den Antikörper THR β 1/2 kann bei Ditsch et al. jedoch keine Korrelation beobachtet werden [151]. Auch beim follikulären Schilddrüsenkarzinom findet sich in vitro die tumorsuppressive Wirkung von THR β . Der Wachstumsfaktor (VEGF) wird geschwächt und die Wirkung eines Signalweges (AKT-mTOR-p70 S6K) reduziert [152].

Die in unserer Untersuchung beobachtete Zunahme der Rezeptorexpression mit zunehmender Graduierung lässt vermuten, dass THR β 1/2 einen onkogenen Effekt ausübt und eine prognostische Relevanz beim Prostatakarzinom hat.

RXR α

Vergleichbar mit THR β lässt sich in der hier vorliegenden Arbeit für RXR α , mit Zunahme des Gleason-Scores (ebenso für Gleason-Score Unterteilung in ≤ 6 , 7, ≥ 8) bzw. der Graduierung, ein statistisch signifikanter Anstieg

der Rezeptorexpression beobachten. Überwiegend findet eine Expression des Rezeptors im Zellkern statt.

In bisher veröffentlichten Studien zeigt sich je nach Gewebe ein unterschiedliches Expressionsverhalten der Retinoidrezeptoren hinsichtlich der Tumorprogression. Bei Ovarialkarzinomen kann für fortgeschrittene FIGO-Stadien eine Überexpression von RAR α und RXR β festgestellt werden. Für RAR α lässt sich dahingehend auch eine eingeschränkte Prognose erkennen. Hier weisen Patienten eine verkürzte Überlebenszeit auf. Zusätzlich findet sich jedoch keine statistisch signifikante Korrelation von RXR α bezüglich der Graduierung bzw. der Tumorprogression [149], [153]. In einer anderen Studie von Katsetos et al. kann der Zusammenhang für RAR α hingegen nicht reproduziert werden; es wird eine Expressionsabnahme von RAR α im Vergleich von G3 zu G2-Karzinomen beschrieben [154].

Auch für das Mammakarzinom liegen immunhistochemische Expressionsanalysen für RXR α vor. Hier wird mit abnehmender Differenzierung eine verminderte RXR α Expression beobachtet [151], [155]. Die Aktivierung von RXR und PPAR γ (Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor gamma) durch Liganden bewirkt zudem eine Apoptose von Brustkrebszellen [156].

Retinoidrezeptoren können mit einigen anderen Rezeptoren Heterodimere bilden [34], [40], [75]. In der vorliegenden Arbeit korreliert RXR α jeweils mit ER α und ER β . Bezüglich des Mammakarzinoms und des Ovarialkarzinoms liegen ähnliche Erkenntnisse vor [83], [157], [149]. Dies lässt eine Wechselwirkung zwischen RXR und ER vermuten.

RXR-Heterodimere werden zum Teil unterschiedlich aktiviert. RXR-PPAR γ können durch Retinoide (für RXR spezifisch) und PPAR γ -Agonisten aktiviert werden. Demgegenüber können RAR-RXR und THR-RXR Heterodimere lediglich durch RAR-spezifische Retinoide bzw. THR-spezifische Thyroide aktiviert werden. Eine Aktivierung durch RXR-selektive Agonisten ist hier nicht möglich [158]. Am Mammakarzinom kann dies auch bestätigt werden. Hier kommt es durch RXR-Agonisten zur

Potenzierung des antiproliferativen und apoptotischen Effekts von PPAR γ [159], [160], [156].

In der vorliegenden Arbeit lässt sich RXR α als prognostisch ungünstiger Faktor identifizieren. Es findet sich eine Zunahme der Expression mit zunehmender Graduierung. Somit nimmt RXR α offenbar einen onkogenen Effekt beim Prostatakarzinom ein.

Expression von ER α

Für die beiden steroidalen Rezeptoren ER α und PR lässt sich in unserer Arbeit ausschließlich eine Expression im Zellkern bei wenigen Probanden beobachten, für ER α bei 18,6 % (33 Fälle). Im Gegensatz zu allen anderen untersuchten Hormonrezeptoren findet sich kein Nachweis der Rezeptoren im Zytoplasma. Die nukleäre Expression korreliert hoch signifikant mit einer schlechteren Graduierung bzw. einem höheren Gleason-Score.

Immunhistochemische Untersuchungen am Endometriumkarzinom zeigen, im Gegensatz zum Prostatakarzinom, erhöhte Expressionsraten von ER α . Dies liegt darin begründet, dass im Endometrium physiologisch hohe Expressionsraten von Östrogenrezeptoren vorzufinden sind [161], [162]. Beim Endometriumkarzinom zeigen sich Expressionsraten des ER α zwischen 47,8 % und 58,7 %. Es kann keine Korrelation bezüglich des FIGO-Stadiums oder der Graduierung nachgewiesen werden. Hingegen weisen ER α positive Patienten einen Vorteil im progressionsfreien Überleben auf [163]. Auch Jongen et al. beobachten ein progressionsfreies Überleben für ER α positive Patienten. Darüber hinaus kommt es hier mit zunehmender Entdifferenzierung (höherer Graduierung und höherem FIGO-Stadium) zur signifikanten Abnahme der Expression von ER α [164].

In bisherigen Arbeiten zum Ovarialkarzinom finden sich Expressionsraten des ER α von 36 % bis 83,5 % [165], [166], [167]. Bei Yang et al. und Lee et al. zeigen sich Expressionsraten von 64,0 % bzw. 83,5 % des ER α bei Ovarialkarzinomen. Ein signifikanter Zusammenhang hinsichtlich der

Graduierung, des FIGO-Stadiums oder der Überlebensrate lässt sich, auch für Subgruppenanalysen, nicht beobachten [165], [166]. Bei Høgdall et al. lässt sich für die Graduierung kein Zusammenhang feststellen. Jedoch korrelieren hier ERα Expression mit FIGO-Stadium sowie mit dem Gesamtüberleben [167].

In verschiedenen Studien zum Mammakarzinom werden Expressionsraten des ERα von 65,0 % bis 76,3 % beobachtet [168], [169], [170], [171]. Bei Korrelation der ERα Expressionsrate und der Tumorgraduierung kommt es mit zunehmender Entdifferenzierung zur Abnahme der Rezeptorexpression [172], [169], [173]. Als wissenschaftlich gesichert gilt der prognostische Stellenwert des ERα. Ein positiver Hormonrezeptorstatus ist mit einem Vorteil für das rezidivfreie Überleben und des Gesamtüberleben vergesellschaftet [174], [175], [176], [177]. Mittlerweile hat sich jedoch eine Diskussion über den zeitabhängigen Effekt des Östrogenrezeptorstatus entwickelt. In diversen Studien wird beobachtet, dass sich nach 2 bis 5 Jahren der protektive Effekt eines positiven ERα verliert oder zum Teil sogar umkehrt [178], [179], [180], [181], [182].

Hinsichtlich des Langzeitüberlebens lässt sich in der vorliegenden Arbeit jedoch kein signifikantes Ergebnis nachweisen.

Im Gegensatz zu den hier diskutierten gynäkologischen Karzinomen wird ERα deutlich geringer im Prostatakarzinom exprimiert (18,6 %). Zudem scheint es eine onkogene Rolle einzunehmen. Dies zeigt sich durch eine zunehmende Expressionsrate von ERα mit steigender Graduierung bzw. steigendem Gleason-Score. Untersuchungen am Tiermodell unterstützen diese Vermutung. Ricke et al. beschreiben, dass es durch ERα-knockout bei Mäusen unter Östrogenstimulation zu einer geringeren Tumorphiliferation kommt als bei Mäusen mit intakten ERα unter Östrogenstimulation [73].

Zunahme der PR-Expression bei einem Subkollektiv

In unserer Arbeit kommt es in 9 Fällen (5,1 %) zur Expression von PR im untersuchten Gewebe. In der Arbeit von Check et al. werden Prostatakarzinome mit Progesteronrezeptorantagonisten behandelt und mit einer Kontrollgruppe verglichen. Unter der Therapie mit dem Antagonisten findet sich eine niedrigere Mortalität als in der Kontrollgruppe [183], [184]. Bei Grindstad et al. ist, wie auch in der vorliegenden Untersuchung, eine Zunahme der PR-Expression mit höherem Gleason-Score und höherer Gradierung zu beobachten. Zudem zeigt sich ein verkürztes Langzeitüberleben bei erhöhter PR-Expression [131]. Somit lässt sich annehmen, dass der PR beim Prostatakarzinom eine onkogene Rolle einnimmt.

In Studien zum Adenokarzinom des Endometriums zeigt sich im Vergleich zum Prostatakarzinom eine deutlich höhere Expressionsrate des PR (36,8 %, 46,7 %, 54,4 %). Dabei nimmt bei höherer Graduierung und FIGO Stadium die Expression des Rezeptors ab. Darüber hinaus lässt sich beobachten, dass PR positive Patienten ein signifikant besseres progressionsfreies Überleben aufweisen als ohne PR-Expression [185], [163], [164].

Im Ovarialkarzinom lassen sich deutlich höhere PR-Expressionsraten beobachten. Lee et al. beschrieben in 86,3 % der Fälle eine Expression. Ein Zusammenhang zwischen der Graduierung oder dem FIGO-Stadium lässt sich nicht erkennen. Von prognostischer Bedeutung ist PR für das krankheitsspezifische Überleben. Es zeigt sich bei Patienten mit PR-Expression eine erhöhte Überlebensrate [165]. In einer großen immunhistochemischen Studie von Høgdall et al. findet sich eine Expressionsrate von 20 % von PR bei Ovarialkarzinomen. Hier korreliert die PR-Expression mit der Tumorgraduierung, jedoch findet sich keine Korrelation zum krankheitsspezifischen Überleben [167]. In einer weiteren Arbeit von Yang et al. kommt es in 57 % der Fälle zur Expression des PR. Hier zeigen Patienten mit PR Expression ein erhöhtes Gesamtüberleben.

Mit abnehmender PR-Expression korrelieren sowohl FIGO-Stadium als auch Graduierung [166].

Ähnliches findet sich beim Mammakarzinom. Salem et al. stellen dar, dass ein PR-Expressionsverlust für das Gesamtüberleben und das fernmetastasen- und lokalrezidivfreie Überleben als prognostischer Faktor dient [168]. Ähnliche Beobachtungen hinsichtlich der prognostischen Bedeutung und des Überlebens bei Brustkrebspatienten werden in weiteren Arbeiten bestätigt. Liu et al. berichten, dass Patienten mit PR positiven Tumoren sowohl mit Tamoxifen, als auch nicht endokrin behandelte Patienten ein besseres brustkrebsspezifisches Überleben zeigen [186]. Rakha et al. stellen fest, dass es bei positivem ERα und negativem PR Status zu einem verkürzten Gesamtüberleben bei Patienten mit invasivem Mammakarzinom kommt [171].

Offenbar nimmt der PR beim Prostatakarzinom eine onkogene Rolle ein. So zeigt sich in der hier vorliegenden Untersuchung mit Zunahme von Gradierung und Gleason-Score auch eine zunehmende PR-Expression, wobei diese Beobachtung auch durch weitere Studien gestützt wird [131], [183], [184].

Rückgang der Rezeptorexpression bei fortschreitendem Tumor - ERβ:

ERβ1 weist in der vorliegenden Arbeit eine nukleäre Expressionsrate von 79,7 % auf und damit die höchste von den hier untersuchten Rezeptoren. Im Gegensatz zu den anderen beiden steroidalern Rezeptoren zeigt sich, dass es mit zunehmender Entdifferenzierung zum Rezeptorverlust kommt. In einer Studie von Jongen et al. am Endometriumkarzinom gibt es eine vergleichbar hohe Expressionsrate von 73,3 % wie in den hier beobachteten Ergebnissen. Im Gegensatz zu den in dieser Arbeit erhobenen Beobachtungen am Prostatakarzinom, ist beim Endometriumkarzinom hinsichtlich ERβ keine Korrelation zum Graduierung oder zum FIGO-Stadium nachweisbar [164]. Ebenso findet sich kein Zusammenhang zum Lymphknoten-Status, Gesamtüberleben sowie krankheitsfreiem Überleben [187], [188]. Jedoch stellt das Verhältnis von

ER α /ER β einen unabhängigen prognostischen Faktor für das Gesamtüberleben dar [188], [164].

Beim Ovarialkarzinom deuten bisherige Studien darauf hin, dass es zu einer Abnahme der ER β -Expression vom gesunden hin zum malignen Gewebe kommt und somit eine tumorprotektive Wirkung vom Rezeptor ausgeht [189], [190], [191], [192]. Auch Chan et al. beobachten eine signifikant höhere Expressionsrate bei niedriger Graduierung verglichen mit höherer Graduierung. Hohe Expressionsraten von ER β sind zudem signifikant mit einem längeren Gesamtüberleben sowie krankheitsfreien Überleben assoziiert [193]. Der Verlust der ER β -Expression begünstigt wahrscheinlich eine maligne Transformation. Auch in vitro Untersuchungen zeigen, dass es durch die Demethylierung von Ovarialkarzinomzellen zur Wiederherstellung der ER β Aktivität und zur Wachstumsinhibierung kommt. Dies lässt eine tumorsuppressive Wirkung vermuten [194].

Für das seröse Ovarialkarzinom zeigt sich bei Ciucci et al. eine Expressionsrate von 80 % des ER β . Zusätzlich lässt sich bezüglich rezidivfreiem Überleben, Gesamtüberleben, Grading oder FIGO-Stadium keine Korrelation feststellen [195].

Es liegen zahlreiche Studien zum Einfluss von ER β auf die Tumorprogression beim Mammakarzinom vor. Es lässt sich, wie beim Prostatakarzinom und anderen Tumoren, ein Rückgang der ER β -Expression im Vergleich zum gesunden Gewebe beobachten [196], [197], [198], [59].

ER β stellt in Bezug auf das rezidivfreie Überleben und Gesamtüberleben einen prognostischen Faktor dar, sodass man von einer tumorsuppressiven Wirkung ausgehen kann. In diversen Studien lässt sich beobachten, dass ein positiver ER β -Status mit einem verlängerten rezidivfreien Überleben einhergeht [199], [200], [201], [202], [203]. Auch bezüglich des Gesamtüberlebens liegen Studien vor, die für ein besseres Outcome bei ER β -Expression sprechen [199], [202], [204]. Lediglich bei Qui et al. zeigt sich im Gegensatz dazu eine Assoziation

zwischen positiven ER β -Status und einem verkürzten Gesamtüberleben [205].

VDR

In unseren Untersuchungen lässt sich im Zytoplasma bei ca. einem Drittel und im Zellkern bei ca. 50 % der Probanden der VDR darstellen. In bisher durchgeführten Studien gibt es hierzu unterschiedliche Angaben [115], [116], [117], [118]. Eine Korrelation bezüglich des Gleason-Scores und der Graduierung ist in der vorliegenden Arbeit nicht erkennbar. Als einziger Rezeptor weist die Expression des VDR eine signifikante Korrelation zum verlängerten Gesamtüberleben auf. Damit kann man davon ausgehen, dass dem Rezeptor eine protektive Funktion im Prostatakarzinom zukommt.

Auch beim Mammakarzinom zeigt sich, dass es mit steigender Expression des Rezeptors zu einer signifikanten Steigerung des progressionsfreien Überlebens bzw. Gesamtüberlebens kommt [206]. In einer weiteren Studie lässt sich sowohl im gesunden als auch im malignen Gewebe VDR immunhistochemisch nachweisen. Die Expression des Rezeptors findet hier im Zellkern und Zytoplasma statt [151]. Dazu passend weist die Untersuchung von Mittal et al. darauf hin, dass die Expression des VDR-Gens im Rahmen der Karzinogenese unterdrückt wird [207]. Hinsichtlich der Tumorstadien lässt sich jedoch keine Korrelation beobachten [151].

Bezüglich des Ovarialkarzinoms liegen widersprüchliche Daten vor. In einer neueren Untersuchung findet sich ein zunehmender Expressionsverlust des VDR bei steigender Graduierung, jedoch besteht kein Zusammenhang zum Gesamtüberleben [149]. Andere Untersuchungen zeigen einen deutlichen Expressionsanstieg des VDR in Ovarialkarzinomen, verglichen mit normalem Ovargewebe [208], [209].

THRa 1/2

Nach ER β zeigt sich bei THRa 1/2 mit rund 70 % die zweithäufigste nukleäre Expression der hier untersuchten Rezeptoren. Auch

zytoplasmatisch ist THRa 1/2 bei rund 35 % der Fälle nachweisbar. Weder die Graduierung, der Gleason-Score, das Langzeitüberleben oder das progressionsfreie Überleben korrelieren mit der Expression des Rezeptors.

Für das Ovarialkarzinom findet sich bei Sattler et al. ein ähnliches Ergebnis. Es bestehen keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Expression des THRa 1/2 und prognostischen Markern. Lediglich subtypspezifisch zeigt sich für das seröse Ovarialkarzinom eine Abnahme der Rezeptorexpression. In der selben Arbeit wird für die Rezeptoren THRa 1 und THRa 2 jeweils eine separate immunhistochemische Färbung durchgeführt um zu untersuchen, ob sich für die Subklassifikation von THRa 1 bzw. THRa 2 eine Unterscheidung ergibt. Für THRa 2 findet sich tendenziell eine Abnahme der Rezeptorprogression mit Zunahme des Tumorstadiums. Zudem kommt es zu einem verkürzten Überleben bei THRa 2-Expression. Für THRa 1 finden sich hingegen keine Zusammenhänge hinsichtlich Überleben und prognostischen Markern [149].

Ein ähnliches Bild zeichnet sich auch in der immunhistochemischen Forschungsarbeit von Ditsch et al. zum Mammakarzinom. Es findet sich hier keine Korrelation zwischen THRa 1/2 und prognosebestimmenden Markern wie z. B. Differenzierungsgrad, Lymphknotenstatus und Tumorgroße [151]. In der selben Arbeit werden zudem THRa 1 und THRa 2 als einzelne Rezeptoren untersucht. Dabei ergibt sich für THRa 2 eine negative Korrelation mit Tumorgroße, Differenzierungsgrad und Lymphknotenbefall. THRa 1 korreliert hierbei lediglich negativ zur Tumorgroße [151].

Résumé

Zur Behandlung vieler Malignome stellt eine Chemotherapie oft die tragende Rolle dar. Die Therapie richtet sich unspezifisch gegen schnell proliferierende Zellen. Dies führt zu vielen unerwünschten Nebenwirkungen und einer erhöhten Rate von Zweitmalignomen [40].

Zunehmende Bedeutung nimmt ein spezifisches Vorgehen im Rahmen einer sogenannten targeted therapy ein. Beispiele hierfür sind die Therapie mit Tamoxifen gegen Östrogenrezeptoren beim Mammakarzinom und der Einsatz von Retinoiden bei der Promyelozytenleukämie [40].

Vorteil der vorliegenden Arbeit ist die Untersuchung an einem sehr großen Kollektiv. Insgesamt sind 177 Patienten mit Prostatakarzinom in die Studie eingeschlossen. Eine Limitierung ergibt sich durch das retrospektive Studiendesign, den fehlenden Vergleich mit gesundem Gewebe, Patienten mit benigner Prostatahyperplasie und Patienten mit Präkanzerose. Zusätzlich ist die Auswertung mittels IRS semiquantitativ.

Hinsichtlich des Gesamtüberlebens lässt sich bei VDR ein verlängertes Gesamtüberleben beobachten. Für die übrigen Kernrezeptoren (ER α , ER β , PR, THR α 1/2, THR β , RXR) lässt sich keine Korrelation hinsichtlich des rezidivfreien Überlebens bzw. Gesamtüberlebens nachweisen. Dies kann unter anderem auf den Umstand zurückgeführt werden, dass zum jetzigen Zeitpunkt (Stand August 2018) nur für einen kleinen Teil der Patienten die Überlebensdaten bzw. Todeszeitpunkt und Todesursache zur Auswertung vorliegen. Hier empfiehlt es sich, zu einem späteren Zeitpunkt diese Daten zu erheben um eine entsprechende Auswertung vorzunehmen.

Bei der statistischen Untersuchung der Studie wurden nicht alle Parameter untersucht, die Einfluss auf das Prostatakarzinom haben. So wurden Alter, ethnische Herkunft, positive Familienanamnese und die häufig diskutierte genetische Komponente bei der Auswertung nicht berücksichtigt.

Die Untersuchung der Rezeptoren auf molekularer Ebene bietet sich an um die Rezeptorexpression weiter zu erforschen. Mittels Northern Blot kann die mRNA isoliert, analysiert und entsprechend quantifiziert werden. Als Vergleich lassen sich zusätzlich mit Hilfe eines Western Blots die Proteine extrahieren und quantifizieren.

Weiterer Forschungsschwerpunkt ist die Behandlung von Prostatakarzinomzelllinien mit Östrogenen, selektiven Estrogen-Rezeptor Modulatoren (SERM), Progesteron, Retinoiden, Schilddrüsenhormonen,

Thyreostatika und Vitamin D und deren Einfluss auf das Wachstum der Zellkulturen um hier neue Therapieansätze zu identifizieren.

6 Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom stellt in Deutschland das häufigste Tumorleiden beim Mann dar [3], [6].

Bei der Behandlung des Prostatakarzinoms spielen die hormonablativ Therapie, die Chemotherapie sowie die radikale chirurgische Intervention wichtige Rollen. Diagnostisch sind insbesondere DRU, PSA-Wert, die TRUS sowie die histologische Auswertung einer Stanzbiopsie entscheidend. Prognostisch relevant sind Gleason-Score, Tumorstadium, PSA-Wert sowie die chirurgischen Resektionsränder. Bisher gibt es keine weitere Möglichkeit zur Subklassifizierung des Prostatakarzinoms oder prognostische Marker [6].

Die zunehmende Häufigkeit des Prostatakarzinoms erfordert die Suche nach Zielmolekülen im Sinne einer targeted therapy zur Erweiterung des Behandlungsspektrums oder auch weitere Biomarker zur besseren Klassifizierung. Ziel dieser Arbeit ist es, durch die Untersuchung 7 verschiedener Rezeptoren (ER α , ER β , PR, VDR, THR α 1/2, THR β , RXR) im Prostatakarzinom eventuell eine weitere Subklassifikation zu erreichen, die sowohl prognostisch, als auch therapeutisch von Nutzen sein könnte.

Hierzu werden an 177 Fällen die Gewebeproben nach gängigen immunhistochemischen Methoden bearbeitet, ausgewertet und statistisch bezüglich ihrer Häufigkeiten und Korrelationen zu Gleason-Score, Graduierung und Überleben analysiert.

In der vorliegenden Arbeit zeigt sich, dass alle 7 der untersuchten Kernrezeptoren im Prostatakarzinom exprimiert werden.

Für ER α , PR, THR β und RXR lässt sich eine signifikante Zunahme der Rezeptorexpression mit zunehmender Tumorprogression beobachten. Bei ER β sinkt die Expression mit Anstieg der Graduierung signifikant. Eine Korrelation hinsichtlich des Gesamtüberlebens findet sich jedoch nicht. Die Expression von THR α 1/2 erfolgt unabhängig von der Tumorprogression und man muss davon ausgehen, dass dieser Rezeptor beim Prostatakarzinom eine untergeordnete Rolle einnimmt.

Bezüglich des Gesamtüberlebens findet sich ein signifikant erhöhtes Überleben für Patienten, bei denen es zur Expression des VDR kommt. Somit kann davon ausgegangen werden, dass dem Rezeptor eine protektive Funktion zukommt. Hinsichtlich Gleason-Score und Graduierung zeigt sich hingegen kein Zusammenhang. Die Untersuchung der übrigen Rezeptoren ergibt keinen Hinweis in Bezug auf die vorliegenden Überlebensdaten.

Für ER β zeigt sich eine Abnahme der Expression beim Prostatakarzinom. Der Stellenwert in der Kanzerogenese ist genau wie die Bedeutung in der Krebsentstehung anderer Tumore noch nicht abschließend geklärt.

Weitere Untersuchungen mit Vergleich der Rezeptorexpression im gesunden Prostatagewebe sowie der simultanen Bestimmung der entsprechenden Hormone (Östrogene, Progesteron, Vitamin D, T3, T4, Retinoide) sind ausstehend.

7 Literaturverzeichnis

1. Ferlay, J., et al., *Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008*. Int J Cancer, 2010. **127**(12): p. 2893-917.
2. Torre, L.A., et al., *Global cancer statistics, 2012*. CA Cancer J Clin, 2015. **65**(2): p. 87-108.
3. Kaatsch, P., et al., *Krebs in Deutschland 2011/2012*. . Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg), 2015. **10. Ausgabe**.
4. Kaatsch, P., et al., *Krebs in Deutschland 2007/2008*. Berlin: Robert Koch-Institut, 2012.
5. Rübben, H., *Uroonkologie*. 6., vollst. überarb. Aufl. ed. 2014, Berlin [u.a.]: Springer. XXII, 883 S.
6. Wirth, M., et al. *Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): Konsultationsfassung: Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms, Langversion 5.0, 2018 AWMF Registernummer: 043/022OL*. 2018; Available from: <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/index.php?id=58&type=0>.
7. Rohde, V., J. Wasem, and A. Katalinic, *Themenheft 36 "Prostataerkrankungen"*, 2007, Robert Koch-Institut.
8. Potosky, A.L., et al., *The role of increasing detection in the rising incidence of prostate cancer*. JAMA, 1995. **273**(7): p. 548-52.
9. Hankey, B.F., et al., *Cancer surveillance series: interpreting trends in prostate cancer--part I: Evidence of the effects of screening in recent prostate cancer incidence, mortality, and survival rates*. J Natl Cancer Inst, 1999. **91**(12): p. 1017-24.
10. Osegbe, D.N., *Prostate cancer in Nigerians: facts and nonfacts*. J Urol, 1997. **157**(4): p. 1340-3.
11. Huggins, C. and C.V. Hodges, *Studies on prostatic cancer: I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate*. 1941. J Urol, 2002. **168**(1): p. 9-12.
12. Whittemore, A.S., et al., *Prostate cancer in relation to diet, physical activity, and body size in blacks, whites, and Asians in the United States and Canada*. J Natl Cancer Inst, 1995. **87**(9): p. 652-61.
13. Smith, J.R., et al., *Major susceptibility locus for prostate cancer on chromosome 1 suggested by a genome-wide search*. Science, 1996. **274**(5291): p. 1371-4.
14. Carpten, J.D., et al., *A 6-Mb high-resolution physical and transcription map encompassing the hereditary prostate cancer 1 (HPC1) region*. Genomics, 2000. **64**(1): p. 1-14.
15. Xu, J., *Combined analysis of hereditary prostate cancer linkage to 1q24-25: results from 772 hereditary prostate cancer families from*

- the International Consortium for Prostate Cancer Genetics. Am J Hum Genet*, 2000. **66**(3): p. 945-57.
16. Rokman, A., et al., *Germline alterations of the RNASEL gene, a candidate HPC1 gene at 1q25, in patients and families with prostate cancer. Am J Hum Genet*, 2002. **70**(5): p. 1299-304.
17. Cher, M.L., et al., *Genetic alterations in untreated metastases and androgen-independent prostate cancer detected by comparative genomic hybridization and allelotyping. Cancer Res*, 1996. **56**(13): p. 3091-102.
18. Adami, H.O., et al., *Alcoholism and cancer risk: a population-based cohort study. Cancer Causes Control*, 1992. **3**(5): p. 419-25.
19. Checkoway, H., et al., *Medical, life-style, and occupational risk factors for prostate cancer. Prostate*, 1987. **10**(1): p. 79-88.
20. Hiatt, R.A., et al., *Alcohol consumption, smoking, and other risk factors and prostate cancer in a large health plan cohort in California (United States). Cancer Causes Control*, 1994. **5**(1): p. 66-72.
21. Dennis, L.K., *Meta-analysis for combining relative risks of alcohol consumption and prostate cancer. Prostate*, 2000. **42**(1): p. 56-66.
22. Coughlin, S.S., J.D. Neaton, and A. Sengupta, *Cigarette smoking as a predictor of death from prostate cancer in 348,874 men screened for the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Am J Epidemiol*, 1996. **143**(10): p. 1002-6.
23. Giovannucci, E., et al., *Smoking and risk of total and fatal prostate cancer in United States health professionals. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1999. **8**(4 Pt 1): p. 277-82.
24. Koblinsky, N.L., et al., *Impact of smoking on cancer stage at diagnosis. J Clin Oncol*, 2003. **21**(5): p. 907-13.
25. Rodriguez, C., et al., *Smoking and fatal prostate cancer in a large cohort of adult men. Am J Epidemiol*, 1997. **145**(5): p. 466-75.
26. Gleason, D.F. and G.T. Mellinger, *Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. J Urol*, 1974. **111**(1): p. 58-64.
27. Lilja, H., *A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. J Clin Invest*, 1985. **76**(5): p. 1899-903.
28. Lilja, H., D. Ulmert, and A.J. Vickers, *Prostate-specific antigen and prostate cancer: prediction, detection and monitoring. Nat Rev Cancer*, 2008. **8**(4): p. 268-78.
29. Damber, J.E. and G. Aus, *Prostate cancer. Lancet*, 2008. **371**(9625): p. 1710-21.
30. Schröder, F.H., *PSA screening--a review of recent studies. Eur J Cancer*, 2009. **45 Suppl 1**: p. 402-4.
31. Harmer, M., P. Denoix, and H. Hamperl, *The TNM-system. Aktuelle Probl Chir*, 1970. **14**: p. 25-36.
32. Treiber, U.Z., D.. *Manual Urogenitale Tumoren. Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. Tumorzentrum München (Ed.). W*, 2008, Zuckschwerdt Verlag.

33. Schmelz, H.U., *Facharztwissen Urologie differenzierte Diagnostik und Therapie*. 3. Aufl. ed. 2014, Berlin [u.a.]: Springer. XVI, 720 S.
34. Löffler, G., *Biochemie und Pathobiochemie*. 9., vollst. überarb. Aufl. ed. 2014, Berlin ; Heidelberg: Springer. XXIX, 1073 S.
35. Tsai, C.J., et al., *Sex steroid hormones in young manhood and the risk of subsequent prostate cancer: a longitudinal study in African-Americans and Caucasians (United States)*. *Cancer Causes Control*, 2006. **17**(10): p. 1237-44.
36. Stattin, P., et al., *High levels of circulating testosterone are not associated with increased prostate cancer risk: a pooled prospective study*. *Int J Cancer*, 2004. **108**(3): p. 418-24.
37. Severi, G., et al., *Circulating steroid hormones and the risk of prostate cancer*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006. **15**(1): p. 86-91.
38. Parsons, J.K., et al., *Serum testosterone and the risk of prostate cancer: potential implications for testosterone therapy*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005. **14**(9): p. 2257-60.
39. Rassow, J., *Biochemie 67 Tabellen*. 3., vollst. überarb. und erw. Aufl. ed. 2012, Stuttgart: Thieme. XVI, 846 S.
40. Gronemeyer, H., J.A. Gustafsson, and V. Laudet, *Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily*. *Nat Rev Drug Discov*, 2004. **3**(11): p. 950-64.
41. Shang, Y. and M. Brown, *Molecular determinants for the tissue specificity of SERMs*. *Science*, 2002. **295**(5564): p. 2465-8.
42. Smith, C.L., Z. Nawaz, and B.W. O'Malley, *Coactivator and corepressor regulation of the agonist/antagonist activity of the mixed antiestrogen, 4-hydroxytamoxifen*. *Mol Endocrinol*, 1997. **11**(6): p. 657-66.
43. Jin, L. and Y. Li, *Structural and functional insights into nuclear receptor signaling*. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010. **62**(13): p. 1218-26.
44. Mangelsdorf, D.J., et al., *The nuclear receptor superfamily: the second decade*. *Cell*, 1995. **83**(6): p. 835-9.
45. McKenna, N.J. and B.W. O'Malley, *Combinatorial Control of Gene Expression by Nuclear Receptors and Coregulators*. *Cell*, 2002. **108**(4): p. 465-474.
46. Kuiper, G.G., et al., *Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996. **93**(12): p. 5925-30.
47. Parker, M.G., *Structure and function of estrogen receptors*. *Vitam Horm*, 1995. **51**: p. 267-87.
48. Murdoch, F.E. and J. Gorski, *The role of ligand in estrogen receptor regulation of gene expression*. *Mol Cell Endocrinol*, 1991. **78**(3): p. C103-8.
49. Mosselman, S., J. Polman, and R. Dijkema, *ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor*. *FEBS Lett*, 1996. **392**(1): p. 49-53.

50. Green, S., et al., *Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A*. Nature, 1986. **320**(6058): p. 134-9.
51. Webb, P., et al., *Tamoxifen activation of the estrogen receptor/AP-1 pathway: potential origin for the cell-specific estrogen-like effects of antiestrogens*. Mol Endocrinol, 1995. **9**(4): p. 443-56.
52. Sukovich, D.A., R. Mukherjee, and P.A. Benfield, *A novel, cell-type-specific mechanism for estrogen receptor-mediated gene activation in the absence of an estrogen-responsive element*. Mol Cell Biol, 1994. **14**(11): p. 7134-43.
53. Couse, J.F. and K.S. Korach, *Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us?* Endocr Rev, 1999. **20**(3): p. 358-417.
54. Bonkhoff, H., et al., *Estrogen receptor expression in prostate cancer and premalignant prostatic lesions*. Am J Pathol, 1999. **155**(2): p. 641-7.
55. Bonkhoff, H. and T. Fixemer, *[Implications of estrogens and their receptors for the development and progression of prostate cancer]*. Pathologe, 2005. **26**(6): p. 461-8.
56. Prins, G.S., et al., *Estrogen imprinting of the developing prostate gland is mediated through stromal estrogen receptor alpha: studies with alphaERKO and betaERKO mice*. Cancer Res, 2001. **61**(16): p. 6089-97.
57. Omoto, Y. and H. Iwase, *Clinical significance of estrogen receptor beta in breast and prostate cancer from biological aspects*. Cancer Sci, 2015. **106**(4): p. 337-43.
58. Fixemer, T., K. Remberger, and H. Bonkhoff, *Differential expression of the estrogen receptor beta (ERbeta) in human prostate tissue, premalignant changes, and in primary, metastatic, and recurrent prostatic adenocarcinoma*. Prostate, 2003. **54**(2): p. 79-87.
59. Leav, I., et al., *Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma*. Am J Pathol, 2001. **159**(1): p. 79-92.
60. Torlakovic, E., et al., *Prostate carcinoma expression of estrogen receptor- β as detected by PPG5/10 antibody has positive association with primary Gleason grade and Gleason score*. Human pathology, 2002. **33**(6): p. 646-651.
61. Linja, M.J., et al., *Expression of ERalpha and ERbeta in prostate cancer*. Prostate, 2003. **55**(3): p. 180-6.
62. Walton, T.J., et al., *Quantitative RT-PCR analysis of estrogen receptor gene expression in laser microdissected prostate cancer tissue*. Prostate, 2009. **69**(8): p. 810-9.
63. Nelles, J.L., W.Y. Hu, and G.S. Prins, *Estrogen action and prostate cancer*. Expert Rev Endocrinol Metab, 2011. **6**(3): p. 437-451.
64. Yang, G.S., et al., *Expression of oestrogen receptor-alpha and oestrogen receptor-beta in prostate cancer*. Chin Med J (Engl), 2007. **120**(18): p. 1611-5.

65. Asgari, M. and A. Morakabati, *Estrogen receptor beta expression in prostate adenocarcinoma*. Diagn Pathol, 2011. **6**: p. 61.
66. Nelson, A.W., et al., *Estrogen receptor beta in prostate cancer: friend or foe?* Endocrine-Related Cancer, 2014. **21**(4): p. T219-T234.
67. Attia, D.M. and A.G. Ederveen, *Opposing roles of ERalpha and ERbeta in the genesis and progression of adenocarcinoma in the rat ventral prostate*. Prostate, 2012. **72**(9): p. 1013-22.
68. Horvath, L.G., et al., *Frequent loss of estrogen receptor-beta expression in prostate cancer*. Cancer Res, 2001. **61**(14): p. 5331-5.
69. Leung, Y.K., et al., *Estrogen receptor (ER)-beta isoforms: a key to understanding ER-beta signaling*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006. **103**(35): p. 13162-7.
70. Dey, P., et al., *Estrogen receptors beta1 and beta2 have opposing roles in regulating proliferation and bone metastasis genes in the prostate cancer cell line PC3*. Mol Endocrinol, 2012. **26**(12): p. 1991-2003.
71. Yang, L., et al., *Central role for PELP1 in nonandrogenic activation of the androgen receptor in prostate cancer*. Mol Endocrinol, 2012. **26**(4): p. 550-61.
72. Zellweger, T., et al., *Estrogen receptor beta expression and androgen receptor phosphorylation correlate with a poor clinical outcome in hormone-naïve prostate cancer and are elevated in castration-resistant disease*. Endocr Relat Cancer, 2013. **20**(3): p. 403-13.
73. Ricke, W.A., et al., *Prostatic hormonal carcinogenesis is mediated by in situ estrogen production and estrogen receptor alpha signaling*. FASEB J, 2008. **22**(5): p. 1512-20.
74. Collins, M.D. and G.E. Mao, *Teratology of retinoids*. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 1999. **39**: p. 399-430.
75. Blomhoff, R. and H.K. Blomhoff, *Overview of retinoid metabolism and function*. J Neurobiol, 2006. **66**(7): p. 606-30.
76. Li, M., et al., *RXR-alpha ablation in skin keratinocytes results in alopecia and epidermal alterations*. Development, 2001. **128**(5): p. 675-88.
77. Tanaka, T. and L.M. De Luca, *Therapeutic potential of "rexinoids" in cancer prevention and treatment*. Cancer Res, 2009. **69**(12): p. 4945-7.
78. Austenaa, L.M., et al., *Vitamin A status significantly alters nuclear factor-kappaB activity assessed by in vivo imaging*. FASEB J, 2004. **18**(11): p. 1255-7.
79. Poon, M.M. and L. Chen, *Retinoic acid-gated sequence-specific translational control by RARalpha*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. **105**(51): p. 20303-8.
80. Orfanos, C.E., et al., *Current use and future potential role of retinoids in dermatology*. Drugs, 1997. **53**(3): p. 358-88.

81. Altucci, L., et al., *Retinoic acid-induced apoptosis in leukemia cells is mediated by paracrine action of tumor-selective death ligand TRAIL*. Nat Med, 2001. **7**(6): p. 680-6.
82. de The, H., et al., *The t(15;17) translocation of acute promyelocytic leukaemia fuses the retinoic acid receptor alpha gene to a novel transcribed locus*. Nature, 1990. **347**(6293): p. 558-61.
83. Tang, X.H. and L.J. Gudas, *Retinoids, retinoic acid receptors, and cancer*. Annu Rev Pathol, 2011. **6**: p. 345-64.
84. Clarke, N., et al., *Retinoids: potential in cancer prevention and therapy*. Expert Rev Mol Med, 2004. **6**(25): p. 1-23.
85. Theodosiou, M., V. Laudet, and M. Schubert, *From carrot to clinic: an overview of the retinoic acid signaling pathway*. Cell Mol Life Sci, 2010. **67**(9): p. 1423-45.
86. Kikugawa, T., et al., *Immunohistochemical study of the receptors for retinoic acid in prostatic adenocarcinoma*. Anticancer Res, 2000. **20**(5C): p. 3897-902.
87. Lotan, Y., et al., *Differential Expression of Nuclear Retinoid Receptors in Normal and Malignant Prostates*. Journal of Clinical Oncology, 2000. **18**(1): p. 116.
88. Alfaro, J.M., et al., *Immunohistochemical detection of the retinoid X receptors alpha, beta, and gamma in human prostate*. J Androl, 2003. **24**(1): p. 113-9.
89. Mao, G.E., et al., *Decreased retinoid X receptor-alpha protein expression in basal cells occurs in the early stage of human prostate cancer development*. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2004. **13**(3): p. 383-90.
90. Mebis, L. and G. van den Berghe, *The hypothalamus-pituitary-thyroid axis in critical illness*. Neth J Med, 2009. **67**(10): p. 332-40.
91. Hsieh, M.L. and H.H. Juang, *Cell growth effects of triiodothyronine and expression of thyroid hormone receptor in prostate carcinoma cells*. J Androl, 2005. **26**(3): p. 422-8.
92. Fahlke, C., *Taschenatlas Physiologie : mit 504 Abbildungen und 44 Tabellen*. 2. Auflage ed. 2015, München: Elsevier, Urban & Fischer.
93. Cheng, S.Y., J.L. Leonard, and P.J. Davis, *Molecular aspects of thyroid hormone actions*. Endocr Rev, 2010. **31**(2): p. 139-70.
94. Zhang, J. and M.A. Lazar, *The mechanism of action of thyroid hormones*. Annu Rev Physiol, 2000. **62**: p. 439-66.
95. Araki, O., et al., *Thyroid hormone receptor beta mutants: Dominant negative regulators of peroxisome proliferator-activated receptor gamma action*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(45): p. 16251-6.
96. Darling, D.S., et al., *Different dimerization activities of alpha and beta thyroid hormone receptor isoforms*. J Biol Chem, 1993. **268**(14): p. 10221-7.
97. Wikstrom, L., et al., *Abnormal heart rate and body temperature in mice lacking thyroid hormone receptor alpha 1*. EMBO J, 1998. **17**(2): p. 455-61.

98. Jones, I., et al., *An intron control region differentially regulates expression of thyroid hormone receptor beta2 in the cochlea, pituitary, and cone photoreceptors*. Mol Endocrinol, 2007. **21**(5): p. 1108-19.
99. Cao, X., et al., *Thyroid hormone induces rapid activation of Akt/protein kinase B-mammalian target of rapamycin-p70S6K cascade through phosphatidylinositol 3-kinase in human fibroblasts*. Mol Endocrinol, 2005. **19**(1): p. 102-12.
100. Semenza, G.L., *Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics*. Oncogene, 2010. **29**(5): p. 625-34.
101. Klein, I. and K. Ojamaa, *Thyroid hormone and the cardiovascular system*. N Engl J Med, 2001. **344**(7): p. 501-9.
102. Boelaert, K. and J.A. Franklyn, *Thyroid hormone in health and disease*. J Endocrinol, 2005. **187**(1): p. 1-15.
103. Moeller, L.C. and D. Fuhrer, *Thyroid hormone, thyroid hormone receptors, and cancer: a clinical perspective*. Endocr Relat Cancer, 2013. **20**(2): p. R19-29.
104. Tsui, K.H., et al., *Triiodothyronine modulates cell proliferation of human prostatic carcinoma cells by downregulation of the B-cell translocation gene 2*. (0270-4137 (Print)).
105. Lehrer, S., et al., *Serum triiodothyronine is increased in men with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia*. (0022-5347 (Print)).
106. Lehrer, S., et al., *Association between serum triiodothyronine (t3) level and risk of disease recurrence in men with localized prostate cancer*. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2001. **4**(4): p. 232-234.
107. Sakurai, A., A. Nakai, and L.J. DeGroot, *Expression of three forms of thyroid hormone receptor in human tissues*. Mol Endocrinol, 1989. **3**(2): p. 392-9.
108. Holick, M.F., *Resurrection of vitamin D deficiency and rickets*. J Clin Invest, 2006. **116**(8): p. 2062-72.
109. Bettoun, D.J., et al., *Retinoid X receptor is a nonsilent major contributor to vitamin D receptor-mediated transcriptional activation*. Mol Endocrinol, 2003. **17**(11): p. 2320-8.
110. Christakos, S., et al., *New insights into the mechanisms of vitamin D action*. J Cell Biochem, 2003. **88**(4): p. 695-705.
111. Ramagopalan, S.V., et al., *A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: associations with disease and evolution*. Genome Res, 2010. **20**(10): p. 1352-60.
112. Gombart, A.F., Q.T. Luong, and H.P. Koeffler, *Vitamin D compounds: activity against microbes and cancer*. Anticancer Res, 2006. **26**(4A): p. 2531-42.
113. Chiang, K.C. and T.C. Chen, *The anti-cancer actions of vitamin D*. Anticancer Agents Med Chem, 2013. **13**(1): p. 126-39.
114. Skowronski, R.J., D.M. Peehl, and D. Feldman, *Actions of vitamin D3, analogs on human prostate cancer cell lines: comparison with 1,25-dihydroxyvitamin D3*. Endocrinology, 1995. **136**(1): p. 20-6.

115. Skowronski, R.J., D.M. Peehl, and D. Feldman, *Vitamin D and prostate cancer: 1,25 dihydroxyvitamin D3 receptors and actions in human prostate cancer cell lines*. Endocrinology, 1993. **132**(5): p. 1952-60.
116. Kivineva, M., et al., *Localization of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor (VDR) expression in human prostate*. J Steroid Biochem Mol Biol, 1998. **66**(3): p. 121-7.
117. Miller, G.J., et al., *Vitamin D receptor expression, 24-hydroxylase activity, and inhibition of growth by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 in seven human prostatic carcinoma cell lines*. Clin Cancer Res, 1995. **1**(9): p. 997-1003.
118. Hendrickson, W.K., et al., *Vitamin D receptor protein expression in tumor tissue and prostate cancer progression*. J Clin Oncol, 2011. **29**(17): p. 2378-85.
119. Oettel, M. and A.K. Mukhopadhyay, *Progesterone: the forgotten hormone in men?* Aging Male, 2004. **7**(3): p. 236-57.
120. Wei, L.L. and R. Miner, *Evidence for the existence of a third progesterone receptor protein in human breast cancer cell line T47D*. Cancer Res, 1994. **54**(2): p. 340-3.
121. Lessey, B.A., P.S. Alexander, and K.B. Horwitz, *The subunit structure of human breast cancer progesterone receptors: characterization by chromatography and photoaffinity labeling*. Endocrinology, 1983. **112**(4): p. 1267-74.
122. Horwitz, K.B. and P.S. Alexander, *In situ photolinked nuclear progesterone receptors of human breast cancer cells: subunit molecular weights after transformation and translocation*. Endocrinology, 1983. **113**(6): p. 2195-201.
123. Hendricks, K., *Zyklusabh angige Expression und Lokalisation der Isoform C des Progesteronrezeptors im humanen Endometrium im Vergleich mit den Isoformen B und A vorgelegt von Kira Hendricks*. 2008. 111 S. Ill., graph. Darst.
124. Scarpin, K.M., et al., *Progesterone action in human tissues: regulation by progesterone receptor (PR) isoform expression, nuclear positioning and coregulator expression*. Nucl Recept Signal, 2009. **7**: p. e009.
125. Edwards, D.P., *The role of coactivators and corepressors in the biology and mechanism of action of steroid hormone receptors*. J Mammary Gland Biol Neoplasia, 2000. **5**(3): p. 307-24.
126. K ppers, M., *Nachweis der Progesteronrezeptor-Isoformen im eutopen Endometrium bei Endometriose vorgelegt von Mareike K ppers, geb. Voigt*. 2012. 79 S. Ill., graph. Darst.
127. Conneely, O.M. and B.M. Jericevic, *Progesterone regulation of reproductive function through functionally distinct progesterone receptor isoforms*. Rev Endocr Metab Disord, 2002. **3**(3): p. 201-9.
128. Vegeto, E., et al., *Human progesterone receptor A form is a cell- and promoter-specific repressor of human progesterone receptor B function*. Mol Endocrinol, 1993. **7**(10): p. 1244-55.

129. Ding, T., W.J. Che, and T.J. Chen, [*Expression of sexual hormone receptors in prostatic cancer tissues*]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 2006. **12**(1): p. 50-2, 56.
130. Hiramatsu, M., et al., *Immunolocalization of oestrogen and progesterone receptors in prostatic hyperplasia and carcinoma*. *Histopathology*, 1996. **28**(2): p. 163-8.
131. Grindstad, T., et al., *High Progesterone Receptor Expression in Prostate Cancer Is Associated with Clinical Failure*. *PLoS ONE*, 2015. **10**(2): p. e0116691.
132. Seipel, A., et al., *Immunohistochemical profile of ductal adenocarcinoma of the prostate*. *Virchows Archiv*, 2014. **465**(5): p. 559-565.
133. Brodin, J., L. Skoog, and P. Ekman, *Immunohistochemistry and biochemistry in detection of androgen, progesterone, and estrogen receptors in benign and malignant human prostatic tissue*. *Prostate*, 1992. **20**(4): p. 281-95.
134. Mobbs, B.G. and Y. Liu, *Immunohistochemical localization of progesterone receptor in benign and malignant human prostate*. *Prostate*, 1990. **16**(3): p. 245-51.
135. Bonkhoff, H., et al., *Progesterone receptor expression in human prostate cancer: correlation with tumor progression*. *Prostate*, 2001. **48**(4): p. 285-91.
136. Yu, Y., et al., *Prostate Stromal Cells Express the Progesterone Receptor to Control Cancer Cell Mobility*. *PLoS One*, 2014. **9**(3).
137. Ji, Q., et al., *Frequent loss of estrogen and progesterone receptors in human prostatic tumors determined by quantitative real-time PCR*. *Mol Cell Endocrinol*, 2005. **229**(1-2): p. 103-10.
138. Sobin, L., M. Gospodarowicz, and C. Wittekind, *International Union Against Cancer (UICC) TNM Classification of Malignant Tumors*. 7th ed. 2009.
139. Barqawi, A.B., et al., *Targeted focal therapy for the management of organ confined prostate cancer*. (1527-3792 (Electronic)).
140. Leung, Y.K., et al., *Estrogen receptor beta2 and beta5 are associated with poor prognosis in prostate cancer, and promote cancer cell migration and invasion*. *Endocr Relat Cancer*, 2010. **17**(3): p. 675-89.
141. Chi, H.C., et al., *Molecular functions of thyroid hormones and their clinical significance in liver-related diseases*. 2013(2314-6141 (Electronic)).
142. Bunn, C.F., et al., *Nucleocytoplasmic shuttling of the thyroid hormone receptor alpha*. (0888-8809 (Print)).
143. Grespin, M.E., et al., *Thyroid hormone receptor alpha1 follows a cooperative CRM1/calreticulin-mediated nuclear export pathway*. 2008(0021-9258 (Print)).
144. Zhang, X.K., et al., *Regulation of the nongenomic actions of retinoid X receptor-alpha by targeting the coregulator-binding sites*. (1745-7254 (Electronic)).

145. Lin, X.F., et al., *RXRalpha acts as a carrier for TR3 nuclear export in a 9-cis retinoic acid-dependent manner in gastric cancer cells.* (0021-9533 (Print)).
146. Trivedi, T., et al., *The vitamin D receptor is involved in the regulation of human breast cancer cell growth via a ligand-independent function in cytoplasm.* 2017(1949-2553 (Electronic)).
147. Guigon, C.J. and S.Y. Cheng, *Novel oncogenic actions of TRbeta mutants in tumorigenesis.* IUBMB Life, 2009. **61**(5): p. 528-36.
148. Ando, S., et al., *Somatic mutation of TRbeta can cause a defect in negative regulation of TSH in a TSH-secreting pituitary tumor.* J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(11): p. 5572-6.
149. Sattler, C., *Expressionsanalyse nukleärer Hormonrezeptoren im Ovarialkarzinom.* 2015. 80 Blatt.
150. Park, J.W., L. Zhao, and S.Y. Cheng, *Inhibition of estrogen-dependent tumorigenesis by the thyroid hormone receptor beta in xenograft models.* Am J Cancer Res, 2013. **3**(3): p. 302-11.
151. Ditsch, N., et al., *Correlation of thyroid hormone, retinoid X, peroxisome proliferator-activated, vitamin D and oestrogen/progesterone receptors in breast carcinoma.* Oncol Lett, 2012. **4**(4): p. 665-671.
152. Kim, W.G., et al., *Inhibition of tumorigenesis by the thyroid hormone receptor beta in xenograft models.* Thyroid, 2014. **24**(2): p. 260-9.
153. Kaiser, P.C., et al., *Retinoid receptors in ovarian cancer: expression and prognosis.* Ann Oncol, 2005. **16**(9): p. 1477-87.
154. Katsetos, C.D., et al., *Cellular distribution of retinoic acid receptor-alpha protein in serous adenocarcinomas of ovarian, tubal, and peritoneal origin: comparison with estrogen receptor status.* Am J Pathol, 1998. **153**(2): p. 469-80.
155. Ditsch, N., et al., *Retinoid X receptor alpha (RXRalpha) and peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) expression in breast cancer: an immunohistochemical study.* In Vivo, 2012. **26**(1): p. 87-92.
156. Elstner, E., et al., *Novel therapeutic approach: ligands for PPARgamma and retinoid receptors induce apoptosis in bcl-2-positive human breast cancer cells.* Breast Cancer Res Treat, 2002. **74**(2): p. 155-65.
157. Hua, S., R. Kittler, and K.P. White, *Genomic antagonism between retinoic acid and estrogen signaling in breast cancer.* Cell, 2009. **137**(7): p. 1259-71.
158. Mukherjee, R., et al., *Sensitization of diabetic and obese mice to insulin by retinoid X receptor agonists.* Nature, 1997. **386**(6623): p. 407-10.
159. Crowe, D.L. and R.A. Chandraratna, *A retinoid X receptor (RXR)-selective retinoid reveals that RXR-alpha is potentially a therapeutic target in breast cancer cell lines, and that it potentiates antiproliferative and apoptotic responses to peroxisome proliferator-*

- activated receptor ligands*. Breast Cancer Res, 2004. **6**(5): p. R546-55.
160. Elstner, E., et al., *Ligands for peroxisome proliferator-activated receptorgamma and retinoic acid receptor inhibit growth and induce apoptosis of human breast cancer cells in vitro and in BNX mice*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(15): p. 8806-11.
161. Bulun, S.E., et al., *Estrogen receptor-beta, estrogen receptor-alpha, and progesterone resistance in endometriosis*. (1526-4564 (Electronic)).
162. Brandenberger, A.W., et al., *Oestrogen receptor (ER)-alpha and ER-beta isoforms in normal endometrial and endometriosis-derived stromal cells*. (1360-9947 (Print)).
163. Fukuda, K., et al., *Prognostic Significance of Progesterone Receptor Immunohistochemistry in Endometrial Carcinoma*. Gynecologic Oncology, 1998. **69**(3): p. 220-225.
164. Jongen, V., et al., *Expression of estrogen receptor-alpha and -beta and progesterone receptor-A and -B in a large cohort of patients with endometrioid endometrial cancer*. Gynecol Oncol, 2009. **112**(3): p. 537-42.
165. Lee, P., et al., *Expression of progesterone receptor is a favorable prognostic marker in ovarian cancer*. Gynecologic Oncology, 2005. **96**(3): p. 671-677.
166. Yang, X.Y., et al., *Prognostic value of estrogen receptor and progesterone receptor status in young Chinese ovarian carcinoma patients*. Gynecol Oncol, 2009. **113**(1): p. 99-104.
167. Hogdall, E.V., et al., *Prognostic value of estrogen receptor and progesterone receptor tumor expression in Danish ovarian cancer patients: from the 'MALOVA' ovarian cancer study*. Oncol Rep, 2007. **18**(5): p. 1051-9.
168. Salmen, J., et al., *Pooled analysis of the prognostic relevance of progesterone receptor status in five German cohort studies*. Breast Cancer Res Treat, 2014. **148**(1): p. 143-51.
169. Grann, V.R., et al., *Hormone receptor status and survival in a population-based cohort of patients with breast carcinoma*. Cancer, 2005. **103**(11): p. 2241-51.
170. Colomer, R., et al., *It is not time to stop progesterone receptor testing in breast cancer*. J Clin Oncol, 2005. **23**(16): p. 3868-9; author reply 3869-70.
171. Rakha, E.A., et al., *Biologic and clinical characteristics of breast cancer with single hormone receptor positive phenotype*. J Clin Oncol, 2007. **25**(30): p. 4772-8.
172. Azizun, N., et al., *Comparison of ER, PR and HER-2/neu (C-erb B 2) reactivity pattern with histologic grade, tumor size and lymph node status in breast cancer*. Asian Pac J Cancer Prev, 2008. **9**(4): p. 553-6.
173. Dunnwald, L.K., M.A. Rossing, and C.I. Li, *Hormone receptor status, tumor characteristics, and prognosis: a prospective cohort of breast cancer patients*. Breast Cancer Res, 2007. **9**(1): p. R6.

174. Knight, W.A., et al., *Estrogen receptor as an independent prognostic factor for early recurrence in breast cancer*. Cancer Res, 1977. **37**(12): p. 4669-71.
175. Anderson, W.F., et al., *Tumor variants by hormone receptor expression in white patients with node-negative breast cancer from the surveillance, epidemiology, and end results database*. J Clin Oncol, 2001. **19**(1): p. 18-27.
176. Fisher, B., et al., *Treatment of lymph-node-negative, oestrogen-receptor-positive breast cancer: long-term findings from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project randomised clinical trials*. Lancet, 2004. **364**(9437): p. 858-68.
177. Pichon, M.F., et al., *Prognostic value of steroid receptors after long-term follow-up of 2257 operable breast cancers*. Br J Cancer, 1996. **73**(12): p. 1545-51.
178. Adami, H.O., et al., *Prognostic implication of estrogen receptor content in breast cancer*. Breast Cancer Res Treat, 1985. **5**(3): p. 293-300.
179. Raemaekers, J.M., et al., *Disease-free interval and estrogen receptor activity in tumor tissue of patients with primary breast cancer: analysis after long-term follow-up*. Breast Cancer Res Treat, 1985. **6**(2): p. 123-30.
180. Hilsenbeck, S.G., et al., *Time-dependence of hazard ratios for prognostic factors in primary breast cancer*. Breast Cancer Res Treat, 1998. **52**(1-3): p. 227-37.
181. Takeuchi, H., et al., *The time-related changes of the importance of prognostic factors in breast cancer. A sequential multivariate analysis of 1423 Japanese patients*. Breast Cancer Res Treat, 2005. **94**(3): p. 273-8.
182. Bentzon, N., et al., *Prognostic effect of estrogen receptor status across age in primary breast cancer*. Int J Cancer, 2008. **122**(5): p. 1089-94.
183. Check, J.H., et al., *Efficacy of the progesterone receptor antagonist mifepristone for palliative therapy of patients with a variety of advanced cancer types*. 2010(1791-7530 (Electronic)).
184. Check, J.H., et al., *Progesterone receptor antagonist therapy has therapeutic potential even in cancer restricted to males as evidenced from murine testicular and prostate cancer studies*. 2010(1791-7530 (Electronic)).
185. Carcangiu, M.L., et al., *Immunohistochemical evaluation of estrogen and progesterone receptor content in 183 patients with endometrial carcinoma. Part I: Clinical and histologic correlations*. Am J Clin Pathol, 1990. **94**(3): p. 247-54.
186. Liu, S., et al., *Progesterone receptor is a significant factor associated with clinical outcomes and effect of adjuvant tamoxifen therapy in breast cancer patients*. Breast Cancer Res Treat, 2010. **119**(1): p. 53-61.
187. Collins, F., et al., *Expression of oestrogen receptors, ERalpha, ERbeta, and ERbeta variants, in endometrial cancers and evidence*

- that prostaglandin F may play a role in regulating expression of ERalpha.* (1471-2407 (Electronic)).
188. Zannoni, G.F., et al., *The expression ratios of estrogen receptor alpha (ERalpha) to estrogen receptor beta1 (ERbeta1) and ERalpha to ERbeta2 identify poor clinical outcome in endometrioid endometrial cancer.* 2013(1532-8392 (Electronic)).
 189. Li, A.J., B.Y. Baldwin RI Fau - Karlan, and B.Y. Karlan, *Estrogen and progesterone receptor subtype expression in normal and malignant ovarian epithelial cell cultures.* 2003(0002-9378 (Print)).
 190. Lindgren, P.R., et al., *Estrogen and progesterone receptors in ovarian epithelial tumors.* 2004(0303-7207 (Print)).
 191. Lazennec, G., *Estrogen receptor beta, a possible tumor suppressor involved in ovarian carcinogenesis.* 2006(0304-3835 (Print)).
 192. Bardin, A., et al., *Loss of ERbeta expression as a common step in estrogen-dependent tumor progression.* 2004(1351-0088 (Print)).
 193. Chan, K.K., et al., *Estrogen receptor subtypes in ovarian cancer: a clinical correlation.* 2008(0029-7844 (Print)).
 194. Yap, O.W., et al., *Epigenetic modifications of the Estrogen receptor beta gene in epithelial ovarian cancer cells.* 2009(0250-7005 (Print)).
 195. Ciucci, A., et al., *Prognostic significance of the estrogen receptor beta (ERbeta) isoforms ERbeta1, ERbeta2, and ERbeta5 in advanced serous ovarian cancer.* 2014(1095-6859 (Electronic)).
 196. Roger, P., et al., *Decreased expression of estrogen receptor beta protein in proliferative preinvasive mammary tumors.* Cancer Res, 2001. **61**(6): p. 2537-41.
 197. Rutherford, T., et al., *Absence of estrogen receptor-beta expression in metastatic ovarian cancer.* Obstet Gynecol, 2000. **96**(3): p. 417-21.
 198. Foley, E.F., et al., *Selective loss of estrogen receptor beta in malignant human colon.* Cancer Res, 2000. **60**(2): p. 245-8.
 199. Honma, N., et al., *Clinical importance of estrogen receptor-beta evaluation in breast cancer patients treated with adjuvant tamoxifen therapy.* J Clin Oncol, 2008. **26**(22): p. 3727-34.
 200. Tan, W., et al., *Estrogen receptor beta as a prognostic factor in breast cancer patients: A systematic review and meta-analysis.* Oncotarget, 2016. **7**(9): p. 10373-10385.
 201. Myers, E., et al., *Inverse relationship between ER-beta and SRC-1 predicts outcome in endocrine-resistant breast cancer.* (0007-0920 (Print)).
 202. Nakopoulou, L., et al., *The favourable prognostic value of oestrogen receptor beta immunohistochemical expression in breast cancer.* (0021-9746 (Print)).
 203. Zhang, H., et al., *Evaluation of ER-alpha, ER-Beta1 and ER-Beta2 expression and correlation with clinicopathologic factors in invasive luminal subtype breast cancers.* (1699-3055 (Electronic)).

204. Sugiura, H., et al., *Expression of estrogen receptor beta wild-type and its variant ERbetacx/beta2 is correlated with better prognosis in breast cancer.* (1465-3621 (Electronic)).
205. Qui, W.S., et al., *Co-expression of ER-beta and HER2 associated with poorer prognosis in primary breast cancer.* (1488-2353 (Electronic)).
206. Ditsch, N., et al., *The association between vitamin D receptor expression and prolonged overall survival in breast cancer.* J Histochem Cytochem, 2012. **60**(2): p. 121-9.
207. Mittal, M.K., et al., *In vivo binding to and functional repression of the VDR gene promoter by SLUG in human breast cells.* Biochem Biophys Res Commun, 2008. **372**(1): p. 30-4.
208. Friedrich, M., et al., *Analysis of the vitamin D system in cervical carcinomas, breast cancer and ovarian cancer.* Recent Results Cancer Res, 2003. **164**: p. 239-46.
209. Villena-Heinsen, C., et al., *Immunohistochemical analysis of 1,25-dihydroxyvitamin-D3-receptors, estrogen and progesterone receptors and Ki-67 in ovarian carcinoma.* Anticancer Res, 2002. **22**(4): p. 2261-7.

8 Danksagung

Ich bedanke mich bei Prof. Dr. med. Doris Mayr für die Überlassung des Themas. Außerdem bedanke ich mich für die geduldige und ausdauernde Unterstützung und Hilfe bei der Fertigstellung der Doktorarbeit.

Prof. Udo Jeschke und seinem Team bestehend aus: Christina Kuhn, Simone Hofmann, Sandra Schulze, Irmgard Wiest und Susanne Kunze möchte ich danken für die Einweisung in die Immunhistochemie und die ausdauernde Geduld. Ich danke zudem für die Möglichkeit, jederzeit Fragen stellen zu dürfen und die tatkräftigste Unterstützung bei der Arbeit im Labor.

Frau Dr. Sabine Heublein danke ich für ihre Unterstützung bei der Erstellung der statistischen Auswertung und der Poster für die Abstracts. Bedanken möchte ich mich bei meinen Eltern, die mich bei meiner Promotion, über das gesamte Studium hinweg und von klein auf unterstützt haben.

Auch bedanke ich mich bei meiner Freundin und all meinen Freunden, die mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen und für mich da waren.

Eidesstattliche Versicherung

Meier, Bertram

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

„Expressionsanalyse nukleärer Hormonrezeptoren beim Prostatakarzinom“

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Leipzig, 01.04.2019

Ort, Datum

Bertram Meier

Unterschrift Doktorandin/Doktorand